

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER DIE VERBREITUNG
DER BAKTERIELLEN
NIERENERKRANKUNG (BKD)
IM SÜDEN BADEN-WÜRTTEMBERGS

Frank Müller

Aus dem
Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt
Aulendorf
Leiter: Ltd. Reg. Vet. Dir. Dr. B. Müller

und dem
Institut für Zoologie und Hydrobiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf
und Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann
Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann

SEROLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE VERBREITUNG
DER BAKTERIELLEN NIERENERKRANKUNG (BKD) IM SÜDEN
BADEN-WÜRTTEMBERGS *

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
von
Frank Müller
Saulgau 1986

* Die Untersuchungen wurden durch das Bundesministerium
für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten dankens-
werterweise unterstützt.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann
Korreferent: Prof. Dr. D. O. Schmid

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Literaturbesprechung	2
1. Salmoniden	2
2. Bakterielle Nierenerkrankung der Salmoniden (BKD)	2
2.1 Entdeckung und Verbreitung	3
2.2 Ätiologie	4
2.3 Symptome und pathologisch-anatomisches Bild	4
2.4 Diagnose über direkte bakteriologische Nachweisverfahren	5
2.5 Nachweismethoden von Antikörpern gegen Renibacterium salmoninarum	7
2.5.1 Agglutinationstest	7
2.5.2 Hämagglutinationshemmungstest, HAH-Test	8
3. Fischimmunologie	9
3.1 Immunsystem	9
3.1.1 Unspezifische Abwehr	10
3.1.2 Spezifische Abwehr	11
3.2 Faktoren, welche die Immunantwort des Fisches beeinflussen	13

	Seite
3.3 Immuntoleranz	14
3.4 Immunologie im Zusammenhang mit der BKD	14
4. Pathogenese	16
4.1 Eintrittspforten	16
4.2 Inkubationszeit	16
4.3 Organmanifestation, Virulenz des Erregers	17
5. Epidemiologie	18
5.1 Geographische Verbreitung	18
5.2 Wirtsspezifität	18
5.3 Auftreten	19
5.4 Erregerübertragung	19
5.5 Faktoren, welche die Anfälligkeit beeinflussen	21
5.5.1 Äußere oder umweltbedingte Faktoren	21
5.5.2 Innere oder somatische Faktoren	23
5.6 Erregerreservoir	24
III. Eigene Untersuchungen	25
1. Material	25
1.1 Bakterien	25
1.2 Kaninchenserum und Fischserum als Kontrollserum	25
1.3 Material der Felduntersuchungen	26

	Seite
1.3.1 Fischzuchtanlagen	26
1.3.2 Fischblutproben	31
1.3.3 Gewebeproben	36
1.4 Reagenzien	36
2. Methoden	37
2.1 Gewinnung der Fischseren	37
2.2 Anzüchten des Erregers	38
2.3 Agglutination	39
2.3.1 Herstellung der Antigensuspension	39
2.3.2 Ausführung	39
2.4 Hämagglutinations-Hemmung, HAH	43
2.4.1 Einstellung auf 4 hämagglutinierende Einheiten	43
2.4.2 Kontrollen für den HAH-Test	47
2.4.3 Ausführung	48
3. Ergebnisse der Felduntersuchung	51
3.1 Nachweis von Renibacterium salmoninarum durch Anzüchten aus Organproben	51
3.2 Serologische Untersuchungsergebnisse der Blutproben aus den Fischzuchtanlagen	52
3.2.1 Agglutination	52
A) Regenbogenforellen	52
B) Bachforellen	54
C) Königslachse	56
3.2.2 Ergebnisse des HAH-Testes	57
A) Regenbogenforellen	57
B) Bachforellen	79
C) Königslachse	79

	Seite
3.2.3 Übersicht der HAH-Ergebnisse der Regenbogenforellen	80
3.2.4 Vergleich der HAH- und Agglutinations- ergebnisse	84
IV. Diskussion	86
1. Felduntersuchungsmethode	86
2. Feldstatus	88
3. "BKD-krankte" Fische und "BKD-Carrier"	89
4. Gesichtspunkte zur Epidemiologie, Immunologie und klinischen Apparenz der BKD	92
4.1 Epidemiologie	92
4.2 Immunologie	93
4.3 Klinische Apparenz	94
4.3.1 Äußere oder umweltbedingte Faktoren	95
4.3.2 Innere oder somatische Faktoren	96
4.3.3 Immunität	97
4.3.4 Antibiotische Versorgung	97
V. Zusammenfassung	99
VI. Summary	101
VII. Literaturverzeichnis	103
Lebenslauf	129

I. Einleitung

Die bei Salmoniden auftretende bakterielle Nierenerkrankung (BKD) ist eine systemische Infektion mit dem Renibacterium salmoninarum, einem kleinen, grampositiven Stäbchen als Erreger.

In Schottland wurde diese Erkrankung um 1930-1933 (MACKIE et al., 1933) bei atlantischen Lachsen (*Salmo salar*) aus Freigewässern zum ersten Mal gefunden. Die ersten Berichte über eine Infektion bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) mit einem kleinen, grampositiven Stäbchen stammen aus Massachusetts, USA (BELDING and MERRILL, 1935).

HOFFMANN et al. konnten 1984 Renibacterium salmoninarum aus pazifischen Lachsen und Forellen in einer Teichanlage in der Bundesrepublik Deutschland nachweisen. Da bisher nur wenige Daten zur Verbreitung der BKD in der Bundesrepublik vorhanden sind, war die Aufgabenstellung dieser Dissertation

1. herauszufinden, welche der Methoden sich zu Flächen- bzw. Felduntersuchungen auf BKD-Antikörper am besten eignet.
2. die Verbreitung der BKD im Süden Baden-Württembergs festzustellen.
3. durch die Untersuchung in den Betrieben epidemiologische Gesichtspunkte aufzudecken, ob und welche Besonderheiten in Wasserversorgung und Betriebswirtschaft mit dem Auftreten dieser Infektion bzw. ihres klinischen Bildes zusammenhängen.

II. Literaturbesprechung

1. Salmoniden

Zu den Teleosteen gehört die Ordnung der Salmoniformes (Lachsfische). Eine Unterordnung stellen nach STEITZ und STENGEL (1984) die Salmoniden (Lachsartige) dar.

Lachs, Forelle und Saibling werden den Salmoniden zugeordnet (CARL et al., 1977). Zu den wirtschaftlich wichtigsten Arten in der BRD zählen die Bachforellen (*Salmo trutta fario*) und die Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri* Richardson). Die Bachforelle ist der einheimische Salmonidenvertreter. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurde die Regenbogenforelle aus den Vereinigten Staaten eingeführt und in Mitteleuropa eingebürgert (BOHL, 1982).

Bei den Lachsen unterscheidet man den atlantischen Lachs (*Salmo salar*) von der Gruppe der pazifischen Lachse (*Oncorhynchus* spp.), wie Buckellachs (*Oncorhynchus gorboscha*), Silberlachs (*Oncorhynchus kisutch*), Königslachs (*Oncorhynchus tshawytscha*), Hundslachs (*Oncorhynchus keta*) und Sockeye-Lachs (*Oncorhynchus nerka*), (NEWDICK, 1983).

2. Bakterielle Nierenerkrankung der Salmoniden (BKD)

Die Bakterielle Nierenerkrankung (BKD, Bacterial Kidney Disease) ist eine systemische bakterielle Erkrankung der Salmoniden, die durch *Renibacterium salmoninarum*, ein kleines, grampositives, unbewegliches Stäbchen, verursacht wird. Der klinische Verlauf ist meist chronisch, aber auch akute bis subakute Fälle werden beschrieben (FRYER und SANDERS, 1980 und 1981).

2.1 Entdeckung und Verbreitung

In Schottland wurde diese Erkrankung um 1930-1933 (MACKIE et al., 1933) bei atlantischen Lachsen (*Salmo salar*) aus Freigewässern gefunden. Die ersten Berichte über eine Infektion bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) mit einem kleinen grampositiven Stäbchen stammen aus Massachussetts, USA (BELDING und MERRILL, 1935). 1961 wurde die Erkrankung bei Lachsen aus Kanada beschrieben (BELL, 1961). Im Zeitraum von 1950-1981 häuften sich die Berichte über das Auftreten der BKD in Schottland, Kanada und den USA (RUCKER et al., 1953; EARP et al., 1953; SNIESZKO und GRIFFIN, 1955; WARREN, 1963; PIPPY, 1969; EVELYN et al., 1973; MITCHUM et al., 1979; FRANTSI et al., 1975; ELLIS et al., 1978; PATERSON et al., 1979 und 1981; FRYER und SANDERS, 1981; LALLIER et al., 1981).

Aus den Jahren 1974 - 1977 stammen die ersten Berichte aus Frankreich (DE KINKELIN, 1974), Italien (GHITTINO et al., 1977), Spanien (MILLAN, 1977), Jugoslawien (FIJAN, 1977) und Japan (KIMURA and AWAKURA, 1977).

HOFFMANN et al. konnten 1984 *Renibacterium salmoninarum* aus Lachsen in einer Teichanlage in der BRD nachweisen. Auch bei anderen Salmoniden wie Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*), Bachforellen (*Salmo trutta*), Huchen (*Hucho hucho*), Seesaiblingen (*Salvelinus alpinus*) und Äsche (*Thymallus thymallus*) aus Teichwirtschaften und Wildgewässern der BRD sind BKD-Fälle beschrieben worden (PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 a und b; KETTLER et al., 1986; SCHAUNER, 1986). LEHMANN und MOCK (1985) und BERNOTH et al. (1985) berichten über das Auftreten der BKD bei Regenbogenforellen aus dem Norddeutschen Raum.

Die USA und Kanada stellen auch heute noch das Hauptverbreitungsgebiet der BKD dar (SCHÄPERCLAUS, 1979; KLONTZ, 1982).

2.2 Ätiologie

ORDAL und EARP (1956) gelang es *Renibacterium salmoninarum*, das ein gram-positives kurzes Stäbchen ($0,3-0,5 \mu\text{m} \times 0,5-1,5 \mu\text{m}$) ist, auf einem Cystein-Blut-Agar anzuzüchten. Das Bakterium ist proteolytisch und bildet Katalase. Aufgrund ihres pleomorphen Aussehens und paarweisen bis kettenförmigen, teilverzweigten Auftretens wurde es den Corynebakterien (*Corynebacterium salmoninarum*) zugeordnet (ROBERTS, 1978).

Das Wachstum auf dem Nährboden wurde von SMITH (1964) folgendermaßen beschrieben: weiße bis cremefarben-gelbliche, runde erhabene, glatt-glänzende Kolonien von variabler Größe. Das Bakterienwachstum ist sehr langsam. Bei einem Temperaturoptimum unter aeroben Bedingungen von $15-18^{\circ}\text{C}$ werden die Kolonien nach 3-10 Tagen aber gelegentlich auch erst nach 3-4 Wochen sichtbar. *Renibacterium salmoninarum*, aus verschiedenen Lokalisationen isoliert, wurde von BULLOCK et al. (1974) und KUSSER und FIEDLER (1983) als homolog in seiner antigenen Eigenschaft beschrieben.

2.3 Symptome und pathologisch-anatomisches Bild

Grundsätzlich werden akute bis subakute und chronische Verlaufsformen unterschieden. Die Veränderungen der einzelnen Organe durch die BKD ist daher unterschiedlich.

In akuten bis subakuten Fällen ist die Niere häufig blaß und geschwollen. Auch Leber und Milz können derartig verändert sein (BULLOCK et al., 1971; FIJAN, 1977; GHITTINO et al., 1977; HOFFMANN et al., 1984).

Die Haut zeigt petechiale bis flächige Blutungen besonders am Flossenansatz, daneben Erosionen, flüssigkeitsgefüllte Bläschen und Ulcera (RUCKER et al., 1953; ROBERTS, 1978; SCHÄPERCLAUS, 1979; SANDERS und FRYER, 1981; KLONTZ, 1982). Augenveränderungen reichen vom Exophthalmus über Kornea- und Linsentrübung bis zum Verlust des Augapfels (BULLOCK et al., 1971; GHITTINO et al., 1977; MITCHUM und SHERMAN, 1981; HOFFMANN et al., 1984; PFEIL-PUTZIEN et al., 1985). Es finden sich Blutungen in der Muskulatur (BULLOCK et al., 1971) und Ascites (FIJAN, 1977).

Bei chronischen Verlaufsformen, häufig bei adulten Salmoniden beobachtet (KLONTZ, 1982), treten in Niere, Milz und Leber grau-weiß bis gelbliche Knoten auf, die sich zu granulomatösen und nekrotischen Herden weiterentwickeln können. (SNIESZKO und GRIFFIN, 1955); BULLOCK et al., 1971; FIJAN, 1977; GHITTINO et al., 1977; KLONTZ, 1982; HOFFMANN et al., 1984). Veränderungen an Ovarien und Testes wie Blutungen und Granulome wurden beschrieben (BULLOCK et al., 1971; KLONTZ, 1982). Peritonitis, Abszesse in der Muskulatur und Exophthalmus sind ebenfalls Erscheinungen des chronischen Verlaufs der BKD (FIJAN, 1977; BULLOCK et al., 1971; EVELYN et al., 1973; HOFFMANN et al., 1984).

2.4 Diagnose über direkte bakteriologische Nachweisverfahren

Lange Zeit diente die Bakterienfärbung nach GRAM aus Abklatschpräparaten von verändertem Gewebe als Nachweisverfahren (BELDING und MERRILL, 1935). Möglich aber schwieriger ist der Bakteriennachweis im histologischen Schnitt. BRUNO und MUNRO (1982) färbten

Gewebeschnitte mit Lillie's Allochrome Technik. Mit einer modifizierten Wolbach's-Giemsa-Färbung arbeiteten WOOD und YASUTAKE (1956): Ferner wurden mit der Braun-Brenn-Technik grampositive Stäbchen gefärbt (PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 b).

Ab 1956 gelang es, den Erreger auch auf einem Cystein-Blut-Agar anzuzüchten (ORDAL und EARP, 1956). Für das Wachstum von *Renibacterium salmoninarum* in vitro ist eine Cysteinanreicherung des Nährmediums notwendig (ORDAL und EARP, 1956; WOLF und DUNBAR, 1959 b). Als KDM-2-Nährboden (Kidney-Disease-Medium-2) entwickelte EVELYN (1977) einen Nährboden mit erheblich besserem Bakterienwachstum. EVELYN empfiehlt zur Isolierung von *Renibacterium salmoninarum* aus Organmaterial dieses zu suspendieren und zu verdünnen, um mögliche antibakterielle Enzyme zu entfernen (EVELYN et al., 1981).

Renibacterium salmoninarum wächst sehr langsam. Es besteht die Gefahr, daß andere Keime den Nährboden überwuchern. Um dies zu verhindern setzten AUSTIN et al. (1983) Antibiotika (Cycloheximid, Polymyxin-B, D-Cycloserin, Oxolinsäure) zu und nannten ihn SKDM-Nährboden ("Selektiv Kidney Disease Medium").

Mit dem Doppelimmunodiffusionstest nach OUCHTERLONY führten BULLOCK et al. (1974) und CHEN et al. (1974) eine weitere Methode ein, *Renibacterium salmoninarum* in Fischgewebe mit einem Kaninchenanti-KD-Serum zu identifizieren.

Ein viel verwendetes Verfahren stellt die Immunofluoreszenzfärbung von Abklatschpräparaten aus Organen erkrankter Fische dar. BULLOCK et al. erprobten 1980 die direkte (dIF) und indirekte (IFAT) Immunfluoreszenstechnik. Als Konjugat dient Kaninchen- oder Ziegen-Antiserum, das in der dIF mit fluoreszierendem Farbstoff markiert wird.

Für die IFAT wird ein Serum, das gegen die Immunglobuline der Anti-KD-Seren gerichtet ist, fluoreszenzmarkiert ("Sandwich"-Methode).

Die Ergebnisse sind gegenüber der Gramfärbung und der Erregeranzucht wesentlich besser. Aus Organmaterial, das von einem mit Antibiotika vorbehandelten Fisch stammt, kann oft kein Erreger mehr angezüchtet, aber durch die Immunfluoreszenstechnik nachgewiesen werden (BULLOCK und STUCKEY, 1975; ROBERTS, 1978; MITCHUM et al., 1979; PATERSON et al., 1979 und 1981 b; SCHÄPERCLAUS, 1979; LAIDLER, 1980; EVELYN et al., 1981; LALLIER et al., 1981; HOFFMANN et al., 1984; PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 a, b).

2.5 Nachweismethoden von Antikörpern gegen Renibacterium salmoninarum

2.5.1 Agglutinationstest

Der Agglutinationstest ist ein serologisches Verfahren, bei welchem Serum auf das Vorhandensein von spezifischen, agglutinierenden Antikörpern untersucht und die Antigen-Antikörper-Reaktion dem bloßen Auge (evtl. mit Hilfe der Lupe) sichtbar gemacht wird (ROLLE und MAYR, 1985).

Die Agglutination wurde bei der bakteriellen Nierenerkrankung von atlantischen und pazifischen Lachsen als Objektträgerschnellmethode (ROBERTS, 1978; WEBER und ZWICKER, 1979) erprobt.

Auch für Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Bachforellen (*Salmo trutta*) ist der Agglutinationstest geeignet (EVELYN et al., 1971; SCHAUNER, 1986).

Bei Sockeye-Lachsen, *Oncorhynchus nerka* (EVELYN, 1971) sowie bei atlantischen Lachsen, *Salmo salar* (WEBER und ZWICKER, 1979) wurden Agglutinationstiter ab 10 als positiv gewertet. Diese Fische hatte man zuvor aktiv mit einer Antigensuspension aus abgetöteten Erregern und Adjuvans immunisiert. 90 Tage nach einer zweiten Vakzinierung konnte EVELYN (1971) Agglutinationstiter bis 1:2560 - 1:10240 bei diesen Sockeye-Lachsen nachweisen.

PATERSON et al. (1981 a, b) beobachteten vakzinierete atlantische Lachse (*Salmo salar*) über einen Zeitraum von 90 Wochen. Bis zur 24. Woche p. inj. konnten sie ansteigende Agglutinationstiter beobachten, danach fielen die Antikörpertiter ab. Für die Felduntersuchung wurde die Agglutination an atlantischen Lachsen (*Salmo salar*) aus kanadischen Flüssen erprobt (WEBER und ZWICKER, 1979). Hohe Agglutinationstiter (1:640) wurden bei Fischen aus einem BKD-endemischen Fluß festgestellt (PIPPY, 1969). Serumproben aus zwei anderen Flüssen, in denen die BKD sporadisch auftrat, ergaben einen Agglutinationstiter bis zu 80. Auch von Lachsen mit hohem Agglutinationstiter aus diesen beiden Flüssen konnte *Renibacterium salmoninarum* nicht isoliert werden. SCHAUNER (1986) unterschied bei zu untersuchenden Fischen nach dem klinischen Bild zwischen "BKD-freie"; "BKD-Carrier" und "BKD-krank". Bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) entsprach der Anteil der positiven Reagenten im Agglutinationstest dieser Einteilung. "BKD-freie" reagierten vornehmlich negativ. Die Gruppe der "BKD-kranken"-Fische zeigte mehr positive Reagenten als die Gruppe der "BKD-Carrier".

2.5.2 Hämagglutinationshemmungstest, HAH-Test

SCHAUNER (1986) nutzte die Eigenschaft von *Renibacterium salmoninarum*, Schaferythrozyten zu agglutinieren, um in Fischseren spezifische Antikörper gegen

Renibacterium salmoninarum nachzuweisen. Bei Salmoniden und Nicht-Salmoniden konnten HAH-Antikörpertiter nachgewiesen werden.

3. Fischimmunologie

3.1 Immunsystem

Grundsätzlich unterscheiden sich die komplexen immunologischen Vorgänge bei Fischen nicht wesentlich von denen höherer Vertebraten (ELLIS, 1982).

Niere, Milz und Thymus sind zumindest bei den Teleosteen immunkompetente Organe. Im Unterschied zu den Säugern besitzen die Fische kein Knochenmark, in dem sich pluripotente Stammzellen befinden. Hämatopoetisches Gewebe das reich an Lympho- und Granulozyten ist, befindet sich in weiten Teilen der Niere und der Milz (ELLIS, 1976). Im Gegensatz zum Knochenmark enthält dieses Gewebe der Niere viele Antikörperproduzierende Zellen und Phagozyten (RIJKERS et al., 1980). Aus diesem Grund besitzt die Niere der Fische Funktionen sowohl des Knochenmarks als auch der Lymphknoten von Säugetieren (ELLIS, 1982). In der Niere der Salmoniden befinden sich pigmenthaltige Zellen, vorwiegend Melanomakrophagen (ELLIS, 1977 a; AGIUS, 1979).

Die Milz hat laut MANNING et al. (1982) in den ersten Lebensmonaten bei der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*) vorwiegend blutbildende Funktion. Mit zunehmendem Alter entwickeln sich rote und weiße Pulpa. In den Retikulinfasernetzen der ellipsoiden Kapillaren liegt das RES der Milz, das eine Filterfunktion ausübt, um lösliche Antigene abzufangen (ELLIS, 1980; SECOMBES und MANNING, 1980; SECOMBES et al., 1980). Diese

Antigene werden den Melanomakrophagenzentren, ähnlich denen in der Niere, zugeführt und phagozytiert (ELLIS et al., 1976; AGIUS, 1980). Die Milz enthält auch Antikörper-produzierende Zellen (RIJKERS et al., 1980). Beobachtungen lassen vermuten, daß die Melanomakrophagenzentren gerade aus Ansammlungen solcher Zellen nach einer antigenen Stimulation entstehen (ELLIS, 1980).

Wie bei höheren Vertebraten erfüllt der Thymus seine Funktion hauptsächlich bis zur Geschlechtsreife des Fisches (ELLIS, 1977 und 1982). Neben verschiedenen Subpopulationen von T-Lymphozyten können bei manchen Arten von "echten" Knochenfischen sowohl T- als auch B-Lymphozyten im Thymus vermutet werden (ELLIS, 1982).

3.1.1 Unspezifische Abwehr

Die unspezifische Abwehr wird in zelluläre und humorale Funktionen gegliedert.

Auch bei Fischen sind die Phagozyten (Makrophagen, Melanomakrophagen und Monozyten) sowie Granulozyten als Träger der unspezifischen zellulären Abwehr bei infektiösen, entzündlichen Prozessen fähig, in das Gewebe zu emigrieren (WOOD et al., 1955; WOOD und ORDAL, 1985; POST, 1963; KLONTZ et al., 1965; KLUGE, 1965; ROBERTS et al., 1969; ELLIS, 1982).

Die humorale spezifische Abwehr erfolgt durch natürliche Hämolsine (LIEFMANN, 1911), Hämagglutinine (HODGINS et al., 1967), Lysozym (LUK 'YANENKO, 1966; SCHÄPERCLAUS, 1979), Properdin und Komplement (CUSHING, 1945; LUK 'YANENKO, 1966; SCHÄPERCLAUS, 1979).

Zumindest ist das Komplementsystem, das ohne Bindung an Immunglobuline zur Zellyse fähig ist (ELLIS, 1982), bei Elasmobranchii (Haie und Rochen), Chondrostei (Störe) und Teleosteer ("echte" Knochenfische) nachgewiesen (GEWURZ et al., 1966; LEGLER et al., 1967; CHILLER et al., 1969 b). Die Inaktivierungstemperatur für das Komplement der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*) und des Silberlachs (*Oncorhynchus kisutch*) liegt bei 44° bzw. 45°C in 20 min. (SAKAI, 1981; ELLIS, 1982).

3.1.2 Spezifische Abwehr

Die spezifische Immunabwehr setzt sich aus zellulären und humoralen Mechanismen zusammen (SCHÄPERCLAUS, (1979). MANNING et al. (1982) konnten nachweisen, daß die unspezifischen und die spezifischen, zellulären Abwehrvorgänge bei Karpfen (*Cyprinus carpio*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) bereits im Alter von wenigen Wochen entwickelt sind. Hingegen wird die Reife, Antikörper zu produzieren erst im Laufe des 1. Lebensjahres erreicht.

Durch antigene Stimulation können lymphoide Zellen zur Proliferation als Primärantwort veranlaßt werden (MANNING et al., 1982; SECOMBES und MANNING, 1980). Fische sind auch zur Sekundärantwort (Booster-Effekt) durch Ausbildung eines immunologischen Gedächtnisses fähig (HILDEMANN und THOENES, 1969; SCHÄPERCLAUS, 1979).

Im Gegensatz zu den 5 Klassen von Immunglobulinen der Mammalier wurde bei Fischen bisher nur eine Klasse, und zwar ein IgM - ähnlicher Antikörper, nachgewiesen (LITMANN, 1975; ELLIS, 1982), die teils als Monomere (FLETCHER und GRANT, 1969; CLEM und MCLEAN, 1975; ELLIS, 1982), teils als Tetra - bzw. Pentamere (SHELTON und SMITH 1970; LITMAN, 1975; STANWARTH und TURNER, 1973;

ELLIS, 1982) auftreten. Laut CORBEL (1975) und ELLIS (1982) ist die Gruppe der Lungenfische (Dipnoi) die einzige Fischgruppe mit zwei Immunglobulinklassen. Der Aufbau der Immunglobuline bei Fischen ähnelt dem der Säugetierantikörper (STANWARTH und TURNER, 1973; CORBEL, 1975; SCHÄPER-CLAUS, 1979; ELLIS, 1982). Daß Serumantikörper auch in Lymphe, Haut- und Intestinalmukus auftreten, liegt vor allem an der besonderen Gefäßwand bei Fischen. Sie ist für Immunglobuline durchlässig (WARDLE, 1971; MACKIE und WARDLE, 1971; ELLIS, 1982).

Innerhalb der Klasse des "IgM"-Antikörpers bei Fischen sollen nach DORSON (1972 a) und ELLIS (1982) mehrere Subklassen existieren, die zum Teil die Funktion der IgM-Moleküle der Säuger im Fisch übernehmen. Ferner werden von ELLIS (1982) sowie CLEM und MCLEAN (1975) den Fisch - Immunglobulinen zytolytische, agglutinierende, passiv hämagglutinierende und teils präzipitierende Eigenschaften zugesprochen.

Antikörperproduktion und Serومتiter sind zwar mit einer schützenden Immunität verknüpft (PATERSON et al., 1981 a), können aber laut AMEND und JOHNSON (1984) nicht als alleiniger Maßstab dafür genommen werden. Dies konnte nach Impfungen mit *Vibrio anguillarum* und *Yersinia ruckeri* (FRYER et al., 1978; JOHNSON et al., 1982) sowie mit *Aeromonas salmonicida* (UDEY und FRYER, 1978; MITCHEL, 1979) gezeigt werden. Einerseits hatten die Fische keinen hohen Antikörpertiter im Serum, jedoch eine gute Immunität. Andererseits schützten hohe Antikörpertiter nicht vor einer Erkrankung nach Inokulation mit virulenten Erregern.

3.2 Faktoren, die die Immunantwort des Fisches beeinflussen

Die Temperatur beeinflusst im Fisch als poikilothermes Tier sowohl humorale als auch zelluläre Immunmechanismen. Grundsätzlich gilt, je höher die Temperatur im physiologisch tolerierten Bereich, desto rascher und stärker erfolgt die Immunantwort (ELLIS, 1982). Die kritische Temperatur für Karpfen (*Cyprinus carpio*) im unteren Bereich liegt nach AVTALION et al. (1976) bereits bei 15°C. Hingegen sind Kaltwasserfische wie die Salmoniden noch bis zu einer Temperatur von 4°C zur Antikörperproduktion fähig (FRYER et al., 1976). Diese Autoren zeigten, daß die temperaturabhängige Phase der Immunantwort vor allem wenige Tage nach der antigenen Stimulation liegt. Mit niedrigerer Temperatur ist die Stoffwechselaktivität im Fisch herabgesetzt und laut ELLIS (1982) auch die anabole Aktivität der Plasmazellen.

Dosis und Inokulationsmodus beeinflussen die Immunantwort (CORBEL, 1975; RIJKERS et al., 1980; ELLIS, 1982).

Wird eine bestimmte Antigenmenge über ein spezielles Eintauchverfahren, über hyperosmotische Infiltration appliziert oder in einer bestimmten Weise injiziert, so erfolgt die Antikörperantwort unterschiedlich (AMEND et al., 1981 und 1983; ELLIS, 1982; MCCARTHY et al., 1984).

In Abhängigkeit davon, ob es sich bei der Immunisierung um eine Primär- oder Sekundärantwort handelt, reagiert die Intensität der Antikörperproduktion auf die Antigendosis (AMBROSIUS et al., 1964; TIZIO und CUDKOWICZ, 1978).

Die Immunantwort ist auch von der Art des Antigens abhängig. In der Literatur sind mehrere Beispiele erwähnt, wo ein bestimmtes Antigen ohne immunstimulierende Adjuvantien versetzt, keine oder nur schwache Antikörperproduktion nach sich zieht (KRANTZ et al., 1963; AVTALION et al., 1980; KLONTZ, 1982; McCARTHY et al., 1984).

CORBEL (1975), ELLIS (1982) und RICHTER (1985), beschrieben einen endogenen Rhythmus der Antikörperproduktion bezogen auf saisonale bzw. endokrine Einflüsse: Trotz konstanter Lichtmenge und Temperatur änderte sich die Immunantwort während der Laichzeit und im jahreszeitlichen Wechsel (YAMAGUCHI et al., 1980).

3.3 Immuntoleranz

Die Immuntoleranz ist die immunologische Unfähigkeit zur spezifischen Immunreaktion, so daß immunkompetente Zellen auf einen spezifischen, antigenen Reiz nicht ansprechen (WIESNER und RIBBECK, 1983). Bei Fischen wurde die temperaturabhängige Immuntoleranz beschrieben (siehe 3.2). MANNING et al. (1982) wiesen auf eine Immuntoleranz hin, die durch die Inkompetenz beim noch juvenilen Fisch, Antikörper zu produzieren, entsteht. Nach KLONTZ (1982) und EVELYN (1984) ist dies für die BKD von besonderer Bedeutung.

3.4 Immunologie im Zusammenhang mit der BKD

Renibacterium salmoninarum kann intrazellulär auch in Makrophagen längere Zeit unbeschadet überdauern (WOOD und YASUTAKE, 1956; YAMAMOTO, 1975; YOUNG und CHAPMAN, 1978). Laut KLONTZ (1982) läßt dies auf einen Vorgang von Immuntoleranz schließen, bei dem die Fähigkeit des Wirtes, auf natürlich erworbene

Antigene zu reagieren, herabgesetzt ist.

Dennoch werden nach natürlichen und künstlich hervorgerufenen Infektionen Antikörper gefunden. WEBER und ZWICKER (1979) wiesen bei atlantischen Lachsen (*Salmo salar*) aus kanadischen Wildgewässern Agglutinine gegen *Renibacterium salmoninarum* nach. SCHAUNER (1986) fand bei Salmoniden und Nichtsalmoniden agglutinierende und hämagglutinationshemmende Antikörper.

Über mehrere Versuche eine spezifische Immunantwort auf *Renibacterium salmoninarum* anzuregen ist berichtet worden. PATERSON et al. (1981 a) gelang es als ersten bei atlantischen Lachsen (*Salmo salar*) nachzuweisen, daß die Antikörperproduktion (Agglutinine) mit einer schützenden Immunität verknüpft ist. In diesem Fall wurden Hitze- und Formalin-inaktivierte Erreger der BKD mit Freund's komplettem Adjuvans versetzt den Lachsen intraperitoneal injiziert. Eine schützende Immunität konnte für zwei Jahre durch Infektionsversuche nachgewiesen werden.

McCARTHY et al. (1984) erreichten ebenfalls eine schützende Immunität, haben aber nicht nachgewiesen, auf welche Art von Serumantikörper dieser Infektionsschutz beruhte. Sie konnten mit pH-9,5-lysierten und mit Formalin-behandelten *Renibakterien* ohne Adjuvans durch intraperitoneale Injektion Regenbogenforellensetzlinge (*Salmo gairdneri*) schützen.

In einer Versuchsreihe wiesen AMEND und JOHNSON (1984) bei Salmoniden nach, daß numerisch-additive Kombinationsvakzinen (ROLLE und MAYR, 1985) gegen bakterielle Infektionen keine antigene Interferenz zur Folge haben. Dabei stellten sie einen potenzierten Impfschutz gegen *Aeromonas salmonicida* fest, wenn

Aeromonas salmonicida mit *Renibacterium salmoninarum* kombiniert, statt *Aeromonas salmonicida* monovalent als Vakzine verwendet wurde.

4. Pathogenese

4.1 Eintrittspforten

Grundsätzlich stellen beim Fisch überhaupt Haut und Kiemen sowie die inneren epithelialen Auskleidungen Eintrittspforten für Infektionserreger dar, da sie in direkten Kontakt mit der Umwelt kommen (MUNRO, 1982).

Bei Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) führten künstlich gesetzte Hautläsionen mit anschließendem Bad in einer Bakteriensuspension (*Renibacterium salmoninarum*) zum Ausbruch der BKD (WOLF und DUNBAR, 1959; BULLOCK et al., 1971). Nach den Befunden von HENDRICKS und LEEK (1975) bei Königslachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) könnte das Auge als Eintrittspforte dienen, ebenso der Digestionstrakt wie WOOD und WALLIS (1955) bei Königslachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*), sowie HOFFMANN et al. (1984) bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) nachweisen konnten. Nach Verfütterung von Organen BKD-erkrankter Fische wurde die Krankheit reproduziert.

4.2 Inkubationszeit

Sie ist wie auch bei vielen anderen Infektionen des Fisches nicht einheitlich. Wassertemperatur, Infektions- bzw. Aufnahmedosis, Infektionsmodus, Kondition und Konstitution des Fisches beeinflussen die Zeitspanne von der Infektion bis zum Krankheitsausbruch.

Bei Silberlachsen (*Oncorhynchus kisutch*) konnte nach intraperitonealer Injektion mit *Renibacterium salmoninarum* IWAMA (1980) bei 13-14°C eine Inkubationszeit von 17-31 Tagen und SANDERS et al. (1978) eine Inkubationszeit von 21-34 Tagen bei 15-20°C feststellen. Diese verlängerte sich bei einer Wassertemperatur von 6,7°C auf 60-71 Tage. Temperaturabhängige Inkubationszeiten von 23 Tagen bei 20,5°C ansteigend auf 81 Tage bei 3,9°C fand KIMURA (1978) an Silberlachsen (*Oncorhynchus kisutch*). Untersuchungen an Sockeye-Lachsen, *Oncorhynchus nerka* (SANDERS et al., 1978; IWAMA, 1980) und atlantischen Lachsen, *Salmo salar* (SMITH, 1964) ergaben ähnliche Ergebnisse.

Nach Skarifikation der Haut und anschließender Zugabe von Erregerkulturen zum Wasser erreichten WOLF und DUNBAR (1959) bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) nach 48 Tagen, YOUNG und CHAPMAN (1978) bei Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) nach 31-41 Tagen eine Erkrankung. In 28 Tagen gelang es IWAMA und GREER (1980) BKD von einem infizierten Königslachs (*Oncorhynchus tshawytscha*) auf Silberlachse (*Oncorhynchus kisutch*) zu übertragen. Sie waren in einem nachgeschalteten Aquarium dem gleichen Wasser ausgesetzt.

4.3 Organmanifestation, Virulenz des Erregers

WOOD und YASUTAKE (1956) nannten das hämatopoetische Gewebe der Niere und die sich rasch regenerierende Epithelschicht des Digestionstraktes als primären Ort der Erregervermehrung. Gemäß einer systemischen Infektion sind nahezu alle Organsysteme vor allem im Spätstadium betroffen (WOOD und YASTUAKE, 1956).

Durch Riesenzellbildung, intrazelluläre Anwesenheit und Überleben des Erregers auch in Makrophagen (YOUNG und CHAPMAN, 1978) sowie Bildung von diffusen Granulomen ähnelt der chronische Verlauf der Erkrankung laut MUNRO (1982) einer Mykobakteriose. Zwar lassen die erheblichen Zell- und Gewebeschäden betroffener Organe eine Toxinbildung vermuten, jedoch ist weder Endo- noch Exotoxinbildung bei *Renibacterium salmoninarum* bisher nachgewiesen.

In den letzten Jahren häuften sich die Berichte über das Vorkommen latenter Infektionen in sogenannten "Carrier-Fischen" (PATERSON et al., 1979; LALLIER et al., 1981; MITCHUM und SHERMAN, 1981; EVELYN, 1984; SCHAUNER, 1986).

5. Epidemiologie

5.1 Geographische Verbreitung

Seit dem ersten Fallbericht aus Schottland ist die Erkrankung durch *Renibacterium salmoninarum* bei Salmoniden in allen Teilen der USA, Kanada sowie in Italien, Frankreich, Jugoslawien, Türkei, Island, England, Spanien und BRD nachgewiesen worden (siehe 2.1). Daraus läßt sich laut KLONTZ (1982) schließen, daß die Erkrankung weltweit in Salmonidenpopulationen auftritt.

5.2 Wirtsspezifität

Die Erkrankung durch *Renibacterium salmoninarum* wurde bei Arten der Gattungen (*Oncorhynchus*, *Salmo*, *Salvelinus* und *Hucho*) diagnostiziert (siehe 2.1). Durch serologische Untersuchungen (SCHAUNER, 1986) konnte zwar die Auseinandersetzung von Nichtsalmoniden mit dem *Renibacterium salmoninarum*, nicht aber die Erkrankung nachgewiesen werden.

Laut SANDERS et al. (1978) ist die Empfänglichkeit für die BKD bei Silberlachsen (*Oncorhynchus kisutch*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) am geringsten. BULLOCK et al. (1971), MITCHUM und SHERMAN (1979 und 1981) sowie SCHÄPERCLAUS (1979) bezeichnen den Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*) als besonders anfällig.

5.3 Auftreten

Noch nicht eindeutig geklärt ist, ob gehäuftes Auftreten von klinisch apparenten Fällen der BKD durch saisonale Einflüsse verursacht wird (KLONTZ, 1982). Bei sinkenden, aber auch bei hohen und höchsten Wassertemperaturen häuften sich die Erkrankungen bei jungen pazifischen Lachsen (MITCHUM und SHERMAN, 1979). Bei Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) traten im späten Frühjahr und im frühen Sommer vermehrt BKD-Todesfälle auf, die nicht im Verhältnis zu Temperaturänderungen standen (MITCHUM et al., 1979).

5.4 Erregerübertragung

Renibacterium salmoninarum wird sowohl horizontal als auch vertikal übertragen.

Über die Erregerausscheidung ist noch wenig bekannt (MITCHUM et al., 1979; PATERSON et al., 1981). BULLOCK et al. (1980) gelang es, das Bakterium in Fäzes nachzuweisen.

Eine eindeutig horizontale Übertragung gelang bei Infektionsversuchen durch Verfütterung von Organen BKD-erkrankter Fische (siehe 4.2). Dem kommt bei den Salmoniden als Raubfisch eine entscheidende Bedeutung zu. Ungeklärt aber ist die horizontale Ansteckung eines Lachses nur über das Medium Wasser im Versuch

von IWAMA und GREER (1980).

Laut SCHÄPERCLAUS (1979) ist es zweifelhaft, ob *Renibacterium salmoninarum* längere Zeit im Wasser unbeschadet überleben kann, da das Bakterium hohe Ansprüche an das Nährmedium stellt. Ist die Wasserversorgung für eine Teichanlage ein Wildgewässer mit BKD-infizierten Fischen, besteht nach FRANTSI et al. (1975) die Gefahr, daß Fische der Anlage an BKD erkranken. Widersprüchlich sind die Berichte von FRANTSI et al. (1977) und ALLISON (1961) darüber, ob sich eine BKD-Infektion von Fischen einer Anlage auf die Fischpopulationen in Wildgewässern übertragen läßt. MITCHUM et al. (1979) berichteten, daß die Übertragung in beide Richtungen möglich ist. Eine Hypothese bleibt laut MITCHUM und SHERMAN (1981) der Hinweis einiger Autoren (SNIESZKO und GRIFFIN, 1955; WOOD und YASUTAKE, 1956; WOLF und DUNBAR, 1959 b; ALLISON, 1961; WARREN, 1963 b; BULLOCK et al., 1971 und 1975), daß belebte Vektoren wie Parasiten (Trematoden, Copepoden, enzystierte Metazerkarien), das Bakterium durch an Haut und Kiemen gesetzte Läsionen übertragen können. Mehr Bedeutung in der horizontalen Infektkette kommen den infizierten, aber klinisch inapparent erkrankten Fischen zu (siehe 5.4).

Der vertikale Übertragungsweg geht über das Fischei (BULLOCK et al., 1978; KLONTZ, 1978; EVELYN et al., 1981; 1984).

BULLOCK et al. (1978) erbrachten den Nachweis, daß eine Oberflächendesinfektion der Lachseier zwar die klinische Apparenz reduziert, jedoch nicht die Bakterienübertragung verhindert. JENSEN et al. (1981) berichteten über ein Verfahren, Salmonideneier mit Erythromycin zu behandeln. Bei den überlebenden Fischen konnte bis zu 18 Monate nach Behandlung keine BKD festgestellt werden.

EVELYN et al. (1981) erbrachten den Beweis, daß *Renibacterium salmoninarum* als einziger bisher bekannter bakteriologischer Infektionserreger bei Fischen in der Coelomflüssigkeit und im Eidotter (EVELYN, 1984) persistiert. Darum stellen die Rogner als "BKD-Carrier" potentielle Überträger der BKD dar (EVELYN, 1984, KLONTZ, 1982). Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß *Renibacterium salmoninarum* auch mit dem Sperma übertragen wird. PETERSON (1982) fand in den Testes von adulten Cutthroat trout (*Salmo clarki bouvieri*) höhere Konzentrationen von *Renibacterium salmoninarum* als in anderen Organen.

5.5 Faktoren, die die Anfälligkeit beeinflussen

5.5.1 Äußere oder umweltbedingte Faktoren

Die BKD tritt in einem breiten Temperaturbereich auf, wobei Änderungen der Wassertemperatur den Krankheitsausbruch fördern (BELDING und MERRILL, 1935; RUCKER et al., 1953; WOLF und DUNBAR, 1959 b; SMITH, 1964; BULLOCK et al., 1971; MITCHUM und SHERMAN, 1971; LALLIER et al., 1981). Ein Abnehmen der Mortalität während der Epizootien wird ab 3,9°C und weniger beobachtet (EARP et al., 1953; WOOD, 1974; KIMURA, 1978). Temperaturen über 17,5-20°C verringern Morbidität und Mortalität (SANDERS et al., 1978).

Ein wichtiger, chemisch-physikalischer Parameter ist die Wasserhärte. WARREN (1963) kommt zu dem Schluß, daß von 37 Zuchtanstalten der gesamten USA nur diejenigen geringe oder keine BKD-Probleme hatten, deren Wasser eine Gesamthärte über 100 mgCaO/l (10 mg Calciumoxid/l. entspricht 1°dH) hatte. Zuchtanlagen mit einer Gesamthärte von weniger als 100 mgCaO/l

hatten schwere, immer wiederkehrende Krankheitsverläufe (WARREN, 1963; MITCHUM et al., 1979; KLONTZ, 1982). Die Ursache für den Zusammenhang von Wasserhärte und Mortalität ist unbekannt.

FRYER und SANDERS (1981) berichten über den Einfluß des Salzgehaltes. Salzwassergehältete, BKD-infizierte Salmoniden zeigten höhere Mortalitätsraten als im Süßwasser.

MITCHUM et al. (1979) zeigten durch Untersuchungen an freilebenden Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*), Bachforellen (*Salmo trutta*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) aus einem verzweigten Quellflußgebiet, daß auch die Fischdichte im Wildgewässer einen Einfluß auf den BKD-Verlauf hat. In Flußläufen mit relativ geringer Wassermenge, aber reich an zusätzlichen Quellen waren regelrecht Fischesammelplätze zu beobachten. In diesen Gewässern wurden mehr klinisch apparente BKD-Fälle gefunden, als in Flußläufen mit hoher Wassermenge und starker Strömung. MITCHUM et al. (1979) schließen daraus, daß im letzteren Fall die BKD-Erreger durch Wassermenge und Strömung so verteilt werden, daß sie nicht mehr auf einen neuen Wirt übertragen werden können. Der Infektionsdruck wird geringer.

Laut WEDEMEYER (1976) begünstigen die Wasserbelastungen durch erhöhte Besatzdichte den Ausbruch der Krankheit. In erster Linie durch Sauerstoffarmut, Ammoniak- und Kohlendioxidanreicherung.

5.5.2 Innere oder somatische Faktoren

Wie für die meisten Infektionskrankheiten gilt auch für die BKD, daß Streß und die damit verbundene Erhöhung des Cortisolspiegels im Blut einen abwehrdepressiven bzw. immunsuppressiven Effekt zur Folge haben. Gerade in Zuchtanstalten sind die Fische oft Stressoren wie Umsetzen, Transport, Laichgeschäft, hohe Besatzdichte und Wasserbelastungen ausgesetzt (WARREN, 1963 a; WEDEMEYER, 1976; PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 b).

Virale Primärinfektionen (YAMAMOTO, 1975) oder Parasiten, wie zum Beispiel enzystierte Metazerkarien (WOOD und YASUTAKE, 1956) beeinträchtigen die Abwehr.

Eine Transferrin-Genotyp-abhängige Widerstandskraft von pazifischen Lachsen konnte festgestellt werden (SUZUMOTO et al., 1977; WINTER et al., 1980; KLONTZ, 1982), wobei über eine Erhöhung des eisenbindenden Proteins Transferrin im Blut des Fisches den Bakterien das essentielle Eisen nicht mehr ausreichend zur Verfügung stand. Die Beschaffenheit des genetischen Materials beeinflußt Morbiditäts- und Mortalitätsraten der BKD.

Es zeigt sich, daß Fische, denen in einer Diät erhöhte Spurenelemente (Fe, Cu, Mn, Co, I und F) zugeführt wurden, geringere Ausfälle durch BKD hatten, als Fische, die mit empfohlenen Bedarfswerten versorgt wurden (WOODALL und LaROCHE, 1974; KLONTZ, 1982). Der erhöhte Gehalt an Jodiden und Fluoriden hatte den größten positiven Effekt. Laut KLONTZ (1982) beeinflußt der Blutgehalt an Spurenelementen die osmoregulatorischen Fähigkeiten der Niere.

5.6 Erregerreservoir

Außerhalb des Fischorganismus scheint der Erreger der BKD nicht überlebensfähig zu sein, weder im Wasser noch in Nichtvertebraten (SCHÄPERCLAUS, 1979; KLONTZ, 1982).

Eine wichtige Rolle spielen die sogenannten "Carrier". Das sind Fische, die das Bakterium beherbergen und möglicherweise ausscheiden, dabei aber klinisch nicht sichtbar krank sind (SNIESZKO und GRIFFIN, 1955; EVELYN et al., 1973; FRANTSI et al., 1975; MITCHUM et al., 1979; SCHÄPERCLAUS, 1979; FRYER und SANDERS, 1981; LALLIER et al., 1981; MITCHUM und SHERMAN, 1981; KLONTZ, 1982; HOFFMANN et al., 1984).

III. Eigene Untersuchungen

1. Material

1.1 Bakterien

Das Renibacterium salmoninarum als Referenzstamm wird mit ATCC (American Type Culture Collection) 33209 bezeichnet. Zur Vermehrung wurde dieser Stamm mehrfach auf dem SKDM-Nährboden (AUSTIN et al., 1983) subkultiviert und bei 15-16°C bebrütet sowie durch Färbungen und mikroskopische Untersuchungen von Ausstrichen kontrolliert.

1.2 Kaninchenserum und Fischserum als Kontrollserum

- 1) Kaninchen Anti-KD-Serum (AS III) (SCHAUNER, 1986)
- 2) Kaninchen Anti-KD-Serum (Aulendorf I), hergestellt nach der bei SCHAUNER (1986) beschriebenen Methode.
- 3) Drei HAH-positive Forellenserum (SCHAUNER, 1986; Nr. 1, 2 und 3).
- 4) Fischserum eigener Versuchsfische
Um weitere positive Kontrollserum für die Untersuchung der Feldserum zu haben, wurden in Aulendorf Forellen gehältert und mit inaktivierten Erregern der BKD immunisiert. Nur 2 von 6 Albino-Regenbogenforellen überlebten bis zum Zeitpunkt der Blutentnahme (Nr. 4 und 5).

Tabelle 1: Antikörpertiter der Kontrollseren

Tierart	Reaktion	Serum-Nr.	Titer
Kaninchen	Agglutination	AS III	64
"	"	Aulendorf I	256
Forellen	HAH	Nr. 1	32
"	"	Nr. 2	64
"	"	Nr. 3	16
"	"	Nr. 4	0
"	"	Nr. 5	4

1.3 Material der Felduntersuchung

Durch die Vermittlung der Fischgesundheitsdienste Aulendorf und Freiburg war es möglich, in Forellenzuchten Blutproben als Untersuchungsmaterial für diese Arbeit zu gewinnen.

1.3.1 Fischzuchtanlagen

In 30 örtlich voneinander getrennten Betrieben konnten Blut- und Gewebeproben gewonnen werden. Auf eine Kartierung, die die geographische Verteilung dieser Anlagen im Süden Baden-Württembergs übersichtlich darstellen könnte, wird aus Gründen gewünschter Anonymität verzichtet.

Die Betriebsstrukturen sind sehr vielfältig. Um mögliche Zusammenhänge zwischen einer bestehenden BKD-Infektion und besonderen Eigenschaften einer Fischzucht erkennen zu können, wurde mit folgendem Untersuchungsplan die Betriebsstruktur und -führung erfaßt.

A) Daten zur Betriebsart

1. Fischart, welche hauptsächlich und welche nebenberuflich gezüchtet bzw. gehalten werden.
2. Für die Art der Wasserversorgung wird zwischen Bach- und Quellwasser unterschieden und die Menge in l/sec. angegeben.
3. Art und Anordnung der Teiche werden beschrieben, ob es sich um Beton- oder Naturteiche handelt und, ob das Wasser nacheinander durch die Teiche fließt, oder, ob sie einzeln mit Frischwasser versorgt werden.
4. Die Fütterungstechnik berücksichtigt die Häufigkeit und Art der Fütterung (Automaten- bzw. Handfütterung).
5. Art und Ausmaß der Belüftung des Wassers in den Teichen (Ringgebläse oder Flobull) sowie Vorhandensein von Sortiermaschinen oder Förderschnecke informieren über die technischen Einrichtungen.

B) Daten zur Betriebsgröße

Mit der folgenden Einteilung soll versucht werden, die Betriebe der Größe nach zu gliedern:

1. a) Mehrere Anlagen werden mit Angestellten oder Familienmitgliedern bewirtschaftet.
b) Eine große Anlage, die so genutzt wird, daß die Arbeit ohne Angestellte nicht durchgeführt werden kann.
2. a) Eine Anlage oder ein Betrieb aus mehreren kleinen örtlich getrennten Teichen, die ohne Angestellte hauptsächlich umgetrieben werden.
b) Eine größere Anlage. Nebenerwerb oder mit Hilfskräfte.

3. Nebenerwerbsbetrieb ohne Hilfskräfte.
4. Teichanzahl und die geschätzte durchschnittliche Besatzdichte (kg/m^3) werden hinzugezogen. Sie wurde folgendermaßen eingeteilt:

1-5	kg/m^3	geringe Besatzdichte
5-10	"	mäßige "
20-30	"	hohe "
40-60	"	sehr hohe "
70-100	"	extrem hohe "

C) Daten zur Betriebsstruktur

1. Hier wurde festgehalten, ob die Fische im Betrieb aus Überwiegend oder ausschließlich eigener Nachzucht oder aus Zukauf von inländischen oder ausländischen Anlagen stammen.
2. Handel, d. h. Fische werden aufgekauft, kurze Zeit gehältert oder transportiert und wieder verkauft.

D) Daten zur Betriebshygiene

1. Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen für Betriebsangehörige, Besucher, Geräte und Teiche wurden beschrieben, sowie
2. Durchführung medikamenteller Maßnahmen in Zusammenarbeit mit dem Fischgesundheitsdienst und zwar prophylaktischer und therapeutischer Art.

- E) Unter Besonderheiten wurden wichtige Fakten des Betriebes, die in obigen Punkten nicht erfaßt werden, aufgeführt (siehe Tabelle 2a).

Tabelle 2a: Erhebungsbogen für Betriebsstruktur und Betriebsführung

Betriebsart	Betriebsgröße	Betriebsstruktur	Betriebshygiene
Spezies:	Größe: <u>1 a</u> <u>1 b</u>	Nachzucht:	Maßnahmen zur Reinigung:
Wasserversorgung:	<u>2 a</u> <u>2 b</u> <u>3</u>	Zukauf:	Desinfektion:
Teichart, -anordnung:		Handel:	
Fütterung:	Besatzdichte:	Besonderheiten:	Medikamentelle Maßnahmen:
Technische Einrichtung:			
Besonderheiten:			Besonderheiten:

Tabelle 2b: Angaben zu den Fischblutproben

Proben-Nr. x - y	Teiche	
Spezies	Art	Untersuchung:
Nutzungsart	Wasserversorgung	betäubt
Gewicht	Besatzdichte	getötet
Geschlecht	Fütterung	Befund nach ... Schlachtung:
Alter	Besonderheiten der Wasserqualität	Zusatzuntersuchung:
Abstammung	Besatzart	
	Besonderheiten	Besonderheiten:

Tabelle 3: Gesamtwasserhärte der einzelnen Teichanlagen
in °dH (1°dH $\hat{=}$ 10 mg Calciumoxyd/l) im Überblick

Anlage	Gesamtwasserhärte		Anlage	Gesamtwasserhärte
1	16,2	"	12	14
2a	12	"	13	3,9
2b	14	"	14	14,6
2c	10,7	"	15	18
3	17,4	"	16	11,2
4	9	"	17a	11,5
5	12,9	"	17b	14
6	9,8	"	17c	11,2
7	12,6	"	18	15,2
8a	19	"	19	4,2
8b	12	"	20	16,8
9	14,6	"	21	0,9
10	17	"	22	1,2
11a	12,6	"	23	0,4
11b	4,2	"		

Die Tabelle 3 zeigt die verschiedenen Gesamtwasserhärten in °dH der Teichanlagen. Die Anlagen aus dem Schwarzwald haben Gesamthärtegrade kleiner als 5. Bis auf 3 Anlagen haben alle übrigen im Voralpenland und auf der Schwäbischen Alb Härtegrade größer als 10.

1.3.2 Fischblutproben

- A) Jede Fischblutprobe wurde mit einer Nummer gekennzeichnet aus der Spezies, Nutzungsart, Gewicht, Geschlecht, Alter und die Abstammung der Forellen zu entnehmen sind.
- B) Zum Teich, aus dem die Fische stammen, wurden Angaben über Teichart, dessen Wasserversorgung und Besatzdichte sowie Fütterung und Besonderheiten der Wasserqualität gemacht.
Auch die Besatzart dieses Teiches wurde erfaßt; z. B. "Rein-Raus"-Methode oder kontinuierliche, dem Wachstum adäquate Verringerung des Bestandes.
- C) Soweit es möglich war, wurde das Allgemeinbefinden vor der Betäubung zur Blutentnahme beobachtet, sowie pathologische Besonderheiten in der klinischen Untersuchung, bei der Schlachtung und nach Zusatzuntersuchung mit dem Mikroskop (Ausstriche und histologische Schnitte) festgehalten.
- D) Wichtige Fakten, die den Fischbesatz, zu denen die Probanden gehörten, betreffen und unter A) — C) nicht aufgeführt sind, werden in "Besonderheiten" zusammengefaßt (siehe Tabelle 2b).

Insgesamt betrug die Anzahl der Blutproben 821. 765 davon wurden von Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*), 53 von Bachforellen (*Salmo trutta*) und 3 von Königslachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) gewonnen.

Das Alter der 3 Königslachse war $2\frac{1}{2}$ Jahre, ihr Gewicht betrug 300 - 400 g. Die 53 Bachforellenblutproben (*Salmo trutta*) stammen aus 3 Anlagen zweier Betriebe (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Angaben der Bachforellenblutproben (*Salmo trutta*)

	Anzahl	Alter	Nutzung	Gewicht
Anlage 1	20	2 J.	Besatz	ca. 400 g
1	15	3 J.	Zucht	600-800 g
Anlage 2a	8	3 J.	Zucht	1-2 kg
2b	10	2 ¹ / ₂ J.	Besatz	250-300 g

Folgende Tabellen (Nr. 5-7) beschreiben die Art und Verteilung der Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*).

Die Betriebe wurden mit einer Ziffer versehen, mit lateinischen Buchstaben einzelne, örtlich voneinander getrennte Anlagen, die aber zu einem Betrieb gehören.

Tabelle 5: Verteilung der untersuchten Serumproben von
Regenbogenforellen auf die Teiche und auf
die Teichanlagen bzw. Betriebe

Betriebe bzw. Anlagen	Teichanzahl	Probenanzahl
1	3	60
2a	1	22
2b	2	40
2c	1	24
3	2	40
4 - 7	je 1	je 20
8a	1	20
8b	1	20
9 u. 10	je 1	je 20
11a	2	49
11b	3	55
12 - 15	je 1	je 20
16	1	13
17a	1	20
17b	1	20
17c	1	20
18	1	20
19	2	36
20	1	20
21	1	30
22	1	30
23	1	26
29 Anlagen	37 Teiche	765 Serumproben

Tabelle 6: Angaben zu den zur Zucht bestimmten Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) der einzelnen Anlagen

Betriebe	Anzahl	Alter in Jahren	geschätztes Gewicht
1	20	4	1,5 - 2 kg
	20	3	1,5 - 2 kg
	20	2	600 - 800 g
2a	9	2 - 3	1 - 2 kg
	9	4	1,5 - 2 kg
	4	5	2 kg
2b	20	4 - 5	2 - 2,5 kg
3	20	4	2 kg
4a	5	2 ¹ / ₂	1 kg
	7	3 ¹ / ₂	1,5 - 2 kg
	12	4 ¹ / ₂	2 - 2,5 kg
4b	20	3 - 4	1,5 - 2,5 kg
5	20	2 ¹ / ₂	600 g
	16	3 ¹ / ₂	1 kg
7 Anlagen	202		

Tabelle 7; Angaben zu den Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*)
der einzelnen Anlagen (Speiseforellen).

Betriebe	Anzahl	Alter in Jahren	geschätztes Gewicht in g
1a	20	1 ¹ / ₂	250 - 300
1b	5	1 ³ / ₄	400
	4	2 ³ / ₄	1.200
	15	1 ¹ / ₂	300 - 350
2	20	1 ¹ / ₂	300 - 500
	20	2 ¹ / ₂	600 - 1.000
3	20	1 ¹ / ₂ - 2	300
4	20	3	350 - 400
5	20	2 - 3	300
6	20	2 - 3	400 - 450
7	20	2	300
8	20	2	250 - 300
9	20	4	400 - 450
10a	25	1 ¹ / ₂	400
10b	5	1 ¹ / ₂	500
	30	1 ¹ / ₂	600
11	20	1 ¹ / ₂	350
12	20	2	400 - 450
13	20	1 ¹ / ₂	350 - 400
14	20	1 ¹ / ₂	300 - 350

Fortsetzung auf der folgenden Seite

Betriebe	Anzahl	Alter in Jahren	geschätztes Gewicht in g
15	13	1 ¹ / ₂	250 - 300
16a	20	1 - 1 ¹ / ₂	350
16b	20	1 - 1 ¹ / ₂	350
16c	20	1 - 1 ¹ / ₂	250
17	20	1 ¹ / ₄	250
18	20	1 ¹ / ₂ - 2	300
19	30	1 ¹ / ₂	250
20	30	1 ¹ / ₂	300
21	26	1 ¹ / ₂	300
25 Anlagen	563		

1.3.3 Gewebeproben

Da die Fische nach der Blutprobenentnahme häufig geschlachtet wurden, war eine makroskopische Kontrolle der Organe, insbesondere der Nieren, möglich. Stichprobenweise wurden Nierenstücke und Gewebestücke veränderter Haut- und Flossenpartien steril entnommen, um sie durch Anzüchten auf dem SKDM-Nährboden (AUSTIN et al., 1983) auf *Renibacterium salmoninarum* zu untersuchen.

1.4 Reagenzien

Die zur Durchführung der Erregeranzüchtung und serologischen Untersuchungen notwendigen Reagenzien wurden alle bei 4°C aufbewahrt und kühl verwendet.

1. Phosphatgepufferte Saline (PBS)

PBS wird im Autoklaven bei 134°C 10 min. sterilisiert. Der pH-Wert soll zwischen 7,2 und 7,5 liegen. Er muß immer wieder kontrolliert und nach Bedarf neu eingestellt werden.

2. Peptonwasser

1 g Bacto-Pepton (Firma Difco) ist in 100 ml PBS zu lösen und wie oben beschrieben zu sterilisieren. Das Peptonwasser dient dazu, *Renibacterium salmoninarum* in Lösung zu halten und zu stabilisieren.

3. Erythrozytensuspension für die HAH

Herstellung: Schafsblut (Firma Oxoid FSR 1053) wird mehrmals mit PBS "gewaschen" und bei 1.600 x g 10 min. zentrifugiert. Danach ist der Überstand zu verwerfen und der Rückstand (gepackte Erythrozyten) erneut mit PBS zu einer 1%igen Lösung aufzuschwemmen. Die Erythrozytensuspension wurde maximal 2 Tage (Lagerung bei 4°C) verwendet.

2. Methoden

2.1 Gewinnung der Fischseren

Zur Blutentnahme aus der Schwanzvene wurden sterile Einwegspritzen (5 ml) und sterile Einmalkanülen (0,8 x 38 mm) verwandt. Die Forellen wurden entweder mit 0,1%igem Trichlormethylpropanol betäubt und anschließend wieder in Frischwasser gegeben, oder durch Kopfschlag betäubt und danach geschlachtet. Die Blutproben wurden über Nacht bei 6 - 8°C aufbewahrt und dann bei 1.600 x g 8 - 10 min. zentrifugiert. Das Serum wurde auf 3 Portionen in Eppendorfgefäße pipetiert, gekennzeichnet und bei -20°C eingefroren.

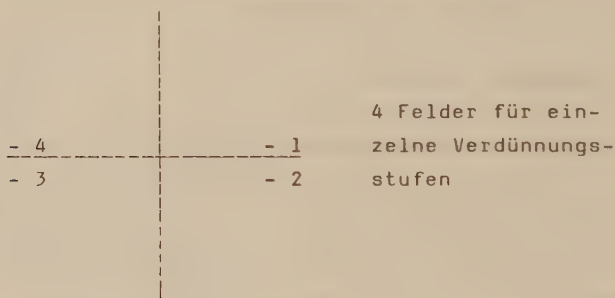
2.2 Anzüchten des Erregers

Zum Teil konnten von geschlachteten Fischen neben Blut- auch Gewebeproben aus Haut und Niere gewonnen werden. Es wurde versucht, aus diesen Gewebeteilen *Renibacterium salmoninarum* anzuzüchten. Dazu diente der Selektivnährboden "SKDM" (AUSTIN et al., 1983).

Die Organprobe (ca. 1 g) wurde oberflächlich abgeflammt und in ca. 5 ml Peptonwasser homogenisiert und bei 3000 x g 10 min. zentrifugiert. Der Überstand ist zu verwerfen, denn in ihm befinden sich möglicherweise das Bakterienwachstum hemmende Enzyme.

Das Sediment wurde in 1 ml Peptonwasser resuspendiert und bis zu 10^{-4} verdünnt, und zwar in einzelnen Schritten der 10er Potenz. Ein Tropfen (100 - 200 μ l) wurde von jeder Verdünnungsstufe auf den Nähragar aufgetropft.

Abbildung 1: Aufteilung des Nährbodens zur Erregeranzucht



Die beimpfte Petrischale wurde bei 15° - 18°C inkubiert. Die griesförmig gestreuten Kolonien sind nach ca. 3 - 4 Wochen zu erkennen. Die gewachsenen Bakterien wurden nach Aussehen der Kolonie in der Kultur, nach Morphologie und Färbeverhalten differen-

ziert und mit dem Referenzstamm verglichen. Zur genaueren Identifizierung wurden die isolierten Bakterien serologisch überprüft. Dazu dienten bekannt positive Fischseren in der HAH und Kaninchen-Anti-KD-Seren in der Agglutination.

2.3 Agglutination

2.3.1 Herstellung der Antigensuspension

Bakterienmaterial wird von einer 2 - 3 Wochen alten Kultur entnommen und in PBS suspendiert. Um die Bakterien zu waschen, werden sie bei $3.000 \times g$ 10 min. lang zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen, das Sediment resuspendiert. 100 mg Bakterien werden in 4 ml PBS suspendiert. Dies ist die eingestellte Arbeitskonzentration.

Anschließend findet die Inaktivierung 45 min. bei 62°C im Wasserbad statt. Eine kurzfristige Aufbewahrung ist bei 4°C möglich.

2.3.2 Ausführung

Unmittelbar vor Versuchsbeginn wird das aufgetaute Fischserum im Wasserbad 30 min. bei 45°C inaktiviert und anschließend auf 4°C abgekühlt. Als Kontrolle dienten ein Kaninchen-Anti-KD-Serum und fetales Kälberserum, jeweils bei 56°C 30 min. inaktiviert. Die Antigensuspension ist ohne Serum auf Autoagglutination zu prüfen.

Man unterscheidet die Objektträgerschnell- und die Mikrotitermethode.

A) Objektträgerschnellmethode

Jeweils 25 μl oder 30 μl von den drei Komponenten PBS, als Vorlage, Antigensuspension und Serum werden nacheinander auf den Objektträger gegeben.

Unter leichtem Schwenken werden die Reagenzien zur Agglutination gebracht. Die Reaktionszeit bei dieser Methode beträgt 10 - 20 min. bei Zimmertemperatur. Nahezu die Hälfte der Reagenzien trocknet währenddessen ein.

Aus diesem Grund ist es besser, die drei Komponenten zunächst in ein Nöpfchen einer Mikrotiterplatte zu übertragen, um sie nach Ablauf der Reaktionszeit herauszupipettieren und auf einen Objektträger zu geben. Es bietet sich an, diese Methode mit der quantitativen Auswertung der Mikrotitermethode zu kombinieren und zwar in Reihe A der Platte, zwei Nöpfchen pro Serum (Doppelprobe).

B) Mikrotitermethode

Bei der kombinierten Methode dient die Reihe A der Mikrotiterplatte (Flachboden) der Objektträgeragglutination. Reihe B bis H werden für die Mikrotitermethode verwandt. In jedes Nöpfchen der Platte werden 25 µl PBS als Vorlage pipettiert. Für die Nöpfchen der Reihe B werden 2 x 25 µl Serum (Doppelprobe) mit den Mikrodilutern aufgenommen und durchverdünnt.

Anschließend werden jeweils 25 µl standardisierte Antigenkonzentration zugegeben.

Die Platte bleibt 10 - 20 min. bei Zimmertemperatur stehen. Anschließend wird sie abgedeckt und $1\frac{3}{4}$ Stunden bei 38°C im Brutschrank inkubiert, danach bei 4°C über Nachtaufbewahrt. Am nächsten Morgen kann das Ergebnis abgelesen werden.

Antigen bzw. Antigen-Antikörper-Komplexe sind nun auf den Boden der Nöpfchen sedimentiert. Durch vorsichtiges Beklopfen der Mikrotiterplatte und Betrachten über ein "Umgekehrtes Mikroskop" (Lupenvergrößerung) können die Konglomerate der Agglutination gut erkannt werden.

Je nach Intensität der Agglutination wird das Resultat in negativ (-), fraglich (+-), schwach positiv (+), positiv (++) und stark positiv (+++) eingeteilt.

Abbildung 2: Aufteilung der Mikrotiterplatte für die kombinierte Agglutinationsmethode, in diesem Beispiel für 4 Test- und 2 Kontrollseren.

T e s t s e r e n													
		Nr.1		Nr.2		Nr.3		Nr.4		FKS		Kaninchen- serum	
V e r d ü n n u n g s s t u f e n	1:2	A											
	1:2	B											
	1:4	C											
	1:8	D											
	1:16	E											
	1:32	F											
	1:64	G											
	1:128	H											

FKS = Fetales Kälberserum als negative Kontrolle

Kaninchen-Anti-KD-Serum als positive Kontrolle

2.4 Hämagglutinations-Hemmung, HAH

Renibacterium salmoninarum agglutiniert Schaferythrozyten (Firma Oxoid). *

2.4.1 Einstellung auf 4 hämagglutinierende Einheiten

Für den HAH-Test wird das Antigen auf 4 hämagglutinierende Einheiten eingestellt.

A) Es wird wie folgt vorgegangen:

Bakterien einer 3 - 4 Wochen alten Kultur werden mit einer sterilen Öse in einige ml Peptonwasser aufgeschwemmt. Diese Suspension muß kühl gehalten werden.

Es werden zur Doppelprobe in der Mikrotiterplatte (Rundboden) in zwei Reihen (A und B) je 25 µl PBS (Verdünnungslösung) vorgelegt. Mit Mikrodilutern werden jeweils 25 µl der obigen Bakteriensuspension aufgenommen und in den Nöpfchen mit PBS eine Verdünnungsreihe in der 2-er Potenz erstellt.

Darauf werden in jedes Nöpfchen 25 µl der in 1.4 beschriebenen Erythrozytensuspension getropft. Nach vorsichtigem Schütteln erfolgt die Sedimentation bzw. Agglutination der Erythrozyten während ca. 1 Stunde bei Zimmertemperatur. Die Sedimentation wird gleichzeitig mit einer 2. Probe ohne Bakterienzusatz mit Volumenausgleich kontrolliert. Die letzte positive Verdünnungsstufe ist diejenige, in der die Agglutination noch stattgefunden hat und entspricht einer HA-Einheit. Die Stufe davor hat 2 HAU, eine weitere davor hat 4 HAU etc.

Beispiel (siehe Abbildung 3):

* Erythrozyten von Schafen aus eigener Haltung waren aus bislang ungeklärter Ursache nicht für den Test geeignet. Renibacterium salmoninarum war nicht fähig, Erythrozyten dieser Schafe zu agglutinieren.

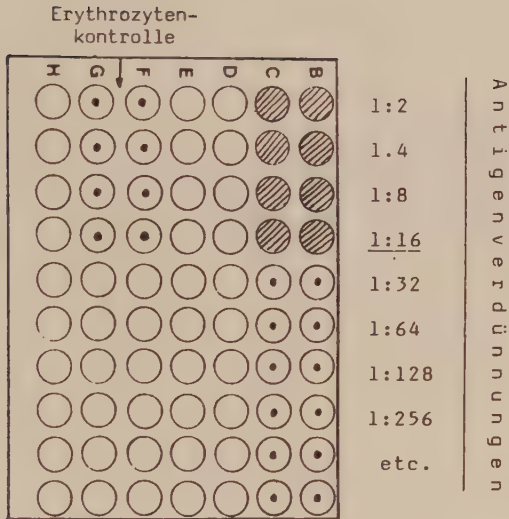
1:16 ist die höchste Verdünnung in der noch Erythrozyten agglutiniert werden, also 0 - 1 HAU. Dann hat die Stufe 1:8 gerade 2 HAU, die Stufe 1:4 gerade 4 HAU. Um auf diese Verdünnungsstufe zu gelangen, muß die Ausgangskonzentration auf 1:4 verdünnt, d. h. es müssen zusätzlich 3 Teile Peptonwasser der Ausgangskonzentration zugegeben werden. *

So erhält man die Gebrauchsverdünnung der Antigene für den HAH-Test. Sie kann zwar mehrere Tage bei 4°C aufbewahrt, sollte jedoch jeden Tag erneut kontrolliert werden (s. u.).

Es empfiehlt sich, die gewonnene Gebrauchsverdünnung auf ihre 4 HAU zu kontrollieren. Dafür wird der Arbeitsgang, der unter A) beschrieben ist wiederholt. Das Ergebnis muß wie in Abbildung 4 aussehen.

* Nach eigenen Erfahrungen erhält man die 4 HAU genauer, wenn man die Ausgangskonzentration nicht auf das rein errechnete Ergebnis verdünnt, sondern etwas weniger Verdünnungslösung zugibt, im Beispiel der vorhergehenden Seite statt 3 Teile etwa 2,5 Teile Peptonwasser nimmt. Der Grund dafür dürfte darin liegen, daß in der letzten positiven Verdünnungsstufe in Wirklichkeit 0 - 1 HAU vorhanden ist.

Abbildung 3: HA-Titerbestimmung der unbekannten
Bakterienkonzentration

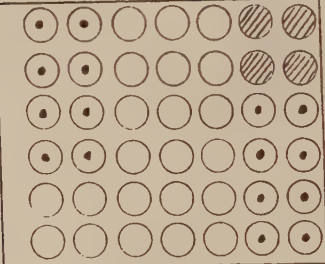


In diesem Fall ist 1:16 der HA-Titer der un-
bekannten Bakterienkonzentration.

- vollständige Hämagglutination
 — Erythrozytenknopf

Abbildung 4: Kontrolle der 4 HAU
(Gebrauchsverdünnung)

Erythrozyten-
kontrolle

	1:2	Antigenverdünnungen
	<u>1:4</u>	
	1:8	
	1:16	
	1:32	
	1:64	

1:4 ist der HA-Titer dieser
Bakterienkonzentration. Folg-
lich ist die Gebrauchsver-
dünnung richtig eingestellt.

-  — vollständige Hämagglutination
 — Erythrozytenknopf

2.4.2 Kontrollen für den HAH-Test

Mit dem HAH-Test der zu untersuchenden Forellenserum müssen gleichzeitig verschiedene Kontrollen laufen.

A) Serumkontrolle

Das Fischserum ist darauf zu testen, ob es selber Schaferythrozyten agglutiniert. Ist dies der Fall, sollte das Serum noch einmal inaktiviert werden. Wenn es nach erneuter Überprüfung immer noch zur Agglutination kommt, so ist das Serum unbrauchbar.

Da positive Reaktionen eines Serums in der Verdünnungsstufe 1:2 unspezifischer Natur sein können, wird diese Stufe in der Reihe A der Mikrotiterplatte als Serumkontrolle genutzt.

Vorgang mit Mengenangaben: Für Reihe A der Mikrotiterplatte:

- 25 µl PBS als Vorlage
- + zu verdünnendes Fischserum (Mikrodiluter 25 µl)
- + 25 µl Peptonwasser, anstelle Bakteriensuspension
- + 25 µl Erythrozytensuspension

B) Bakterienkontrolle

Die Antigensuspension wird erneut auf ihre hämagglutinierenden Einheiten und ihre Agglutinationsfähigkeit überprüft. Vorgang mit Mengenangabe:

- 25 µl PBS als Vorlage
- + zu verdünnende Antigensuspension (Mikrodiluter 25 µl)
- + 25 µl Erythrozytensuspension

C) Erythrozytenkontrolle

Die Schaferythrozyten werden auf ihre knopfförmige Sedimentation überprüft.

Vorgang mit Mengenangabe:

- 25 μ l PBS als Vorlage
- + 25 μ l Peptonwasser, statt Antigensuspension
- + 25 μ l Erythrozytensuspension

2.4.3 Ausführung des HAH-Tests

Unmittelbar vor dem Test wird das aufgetaute Serum bei 45°C 15 min. inaktiviert und anschließend auf 4°C abgekühlt.

Nach Vorlage von 25 μ l PBS als Verdünnungslösung auf der ganzen Mikrotiterplatte (Rundboden), werden 2 x 25 μ l der zu untersuchenden Fischseren mit den Mikrodilutern aufgenommen. So wird als Doppelprobe je Serum eine Verdünnungsreihe in 2-er Potenzen erstellt. Ausgegangen wird von der Reihe A und über Reihe B, C, etc. nach unten verdünnt, wobei Reihe A als Serumkontrolle dient (siehe 2.4.2 A).

Danach werden 25 μ l Antigensuspension (4 HAU) in jedes Nöpfchen der Reihe B bis H getropft.

Für den Ablauf der Antigen-Antikörper-Reaktion muß die Platte, nachdem sie gut geschüttelt wurde, 45 min. bei Zimmertemperatur stehen.

Nach Vorbereitung der verschiedenen Kontrollen (siehe 2.4.2) können 25 μ l der standardisierten Erythrozytensuspension in jedes Nöpfchen der Mikrotiterplatte getropft werden, die dann kurze Zeit vorsichtig geschüttelt wird.

Die Reaktionszeit bis zum Ablesen des Ergebnisses beträgt 40 - 60 min. bei Zimmertemperatur, bei 4°C ca. 12 Stunden. Als positive Hemmungsreaktion gilt die knopfförmige Sedimentation der Erythrozyten, im Gegensatz zur feinen Verteilung der Erythrozyten bei nicht gehemmter Agglutination. Der Titer des Fischserums entspricht der höchsten Verdünnungsstufe in der noch keine Agglutination stattgefunden hat.

Abbildung 5: Aufteilung der Mikrotiterplatte für einen HAH-Test von 5 zu untersuchenden Fischseren.

		T e s t s e r e n										Bakterien-	
		Nr.1		Nr.2		Nr.3		Nr.4		Nr.5			
V e r d ü n n u n g s s t u f e n		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	1:2	A											
	1:4	B											
	1:8	C											
	1:16	D											
	1:32	E											
	1:64	F											
	1:128	G											
	1:256	H											

Erythrozyten-
kontrolle

-  — vollständige Hämagglutination
 — Erythrozytenknopf

Die Abbildung 6 zeigt einen Hämagglutinationshemmungstest. Serum Nr. 1 ist ein positives Kontrollserum mit dem Titer 64. Serum Nr. 2 bis 5 sind zu untersuchende Feldseren von Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*). Sie reagieren positiv: Nr. 2 - 1:16, Nr. 3 - 1:32, Nr. 4 - 1:32 und Nr. 5 - 1:8. In Reihe A sind die Serumkontrollen. Rechts im Bild sind Bakterien- und Erythrozytenkontrolle abzulesen.

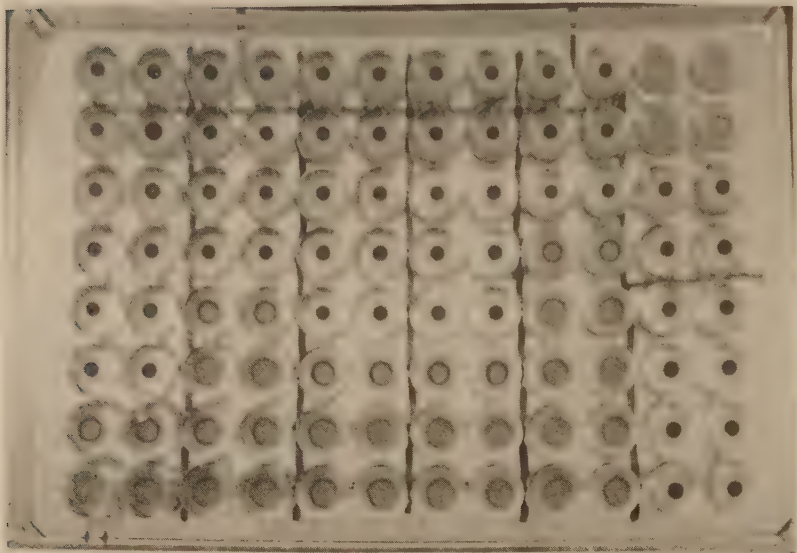


Abbildung 6: HAH-Test in der Mikrotiterplatte über einen Umkehrspiegel betrachtet.

3. Ergebnisse der Felduntersuchung

3.1 Nachweis von Renibacterium salmoninarum durch Anzucht aus Organproben (Haut und Niere)

In 11 Anlagen von 6 Betrieben ergab sich die Gelegenheit, Organproben zur Anzucht von Renibacterium salmoninarum zu entnehmen.

Aus dem Nierengewebe von 2 Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) wurde Renibacterium salmoninarum durch Anzucht (siehe 2.3) isoliert. Dieser Betrieb (Nr. 11a, siehe Tabelle 29, 30) war Monate vorher bereits durch eine klinisch apparente BKD-Erkrankung bei Regenbogenforellen aufgefallen.

Fall 1: Regenbogenforelle (Speiseforelle), 1 $\frac{1}{2}$ Jahre alt, ca. 350 g schwer. Sie stammt aus einem betonierten Teich mit hoher Besatzdichte (20 - 30 kg/m³). Bereits bei der Schlachtung im Anschluß an die Blutentnahme fielen Nierenveränderungen auf. Die Niere war mit weiß bis grauen, speckigen Knoten von unregelmäßiger Gestalt durchsetzt. Folgender histologischer Befund wurde erhoben: Hochgradige Dilatation der Tubuli, ausgefüllt mit Detritus, zum Teil mit zentraler Verkalkung und interstitiellen Granulomen.

Fall 2: Regenbogenforelle (Zuchtforelle), 4 Jahre alt, ca. 2 kg schwer. Sie stammt aus einem betonierten Teich mit geringer Besatzdichte. Schon im Wasser fiel der schlechte Allgemeinzustand des Fisches auf (schlechter Nährzustand, Apathie, Flossenschäden, Glotzaugen). Bei der Schlachtung fanden sich außerdem geschwürige Hautveränderungen und rötliche Punkte an den Flossenansätzen. Die Flossenspitzen waren verkürzt und ausgefasert. Das gesamte Nierengewebe hatte eine diffuse grau-rote Farbe; die übrigen Organe waren

makroskopisch unauffällig.

In diesen beiden Forellen wurden bereits 10 Tage nach der Überprüfung von Nierengewebe auf SKDM-Nährboden (siehe 2.3) kleine weiße Kolonien sichtbar. Kolonienform, Farbeverhalten (Gramfärbung) und Bakterienmorphologie entsprach den Eigenschaften des Referenzstammes *Renibacterium salmoninarum* ATCC 33209. Serologisch wurde das isolierte Bakterium mit einem bekannten positiven Fischserum in der HAH-Reaktion überprüft.

3.2 Serologische Untersuchungsergebnisse der Blutproben aus den Fischzuchtanlagen

3.2.1 Agglutination

A) Regenbogenforellen

Von den untersuchten Seren der Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) waren 58 (7,6%) Serumproben für den Agglutinationstest unbrauchbar. Nach der Inaktivierung waren die Seren verklumpt.

Tabelle Nr. 8 zeigt einen Überblick über das Resultat der restlichen Serumproben nach Objektträgerschnell- und Mikrotitermethode.

Aus Tabelle 8 geht hervor, daß bei der Objektträgermethode von den 707 brauchbaren Serumproben 646 (91,4%) negativ, 47 (6,6%) fraglich und 14 (2%) positiv waren.

In der Mikrotitermethode waren 640 (90,5%) Serumproben negativ, 52 (7,3%) fraglich und 15 (2,1%) in einer Verdünnungsstufe von 1:2 positiv.

Tabelle 8: Agglutinationsergebnisse der Regenbogenforellen im Überblick

Betriebe und Anlagen	1	2a	2b	2c	3	4	5	6	7	8a	8b	9	10	11a	11b	
Anzahl der Blutproben	60	22	44	24	40	20	20	20	20	20	20	20	20	49	55	
Brauchbare Serumproben	58	20	39	24	36	19	18	19	19	20	20	16	18	47	52	
Objektträgermethode	negativ	52	20	39	23	34	18	18	17	19	18	15	16	17	44	
	fraglich	6	0	0	1	1	1	0	1	0	1	5	0	1	4	
	positiv	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	4	
Mikrotitermethode	negativ	52	19	37	23	33	18	17	16	19	19	18	13	18	44	
	fraglich	5	1	2	1	2	1	1	2	0	0	1	3	0	5	
	positiv	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	3	
Gesamtzahl																
Betriebe und Anlagen	12	13	14	15	16	17a	17b	17c	18	19	20	21	22	23		
Anzahl der Blutproben	20	20	20	20	13	20	20	20	20	36	20	30	30	26	765 (100%)	
Brauchbare Serumproben	19	19	18	20	13	17	18	18	18	32	17	22	25	26	707 (92,4%)	
Objektträgermethode	negativ	14	18	16	19	12	17	16	18	17	27	15	21	22	24	646 (84,4%)
	fraglich	5	1	2	0	1	0	1	0	0	3	2	1	3	1	47 (6,1%)
	positiv	0	0	0	1	0	0	1	0	1	2	0	0	0	1	14 (1,8%)
Mikrotitermethode	negativ	14	18	18	19	13	15	18	18	16	27	14	20	23	22	640 (83,6%)
	fraglich	4	0	0	0	0	2	0	0	2	4	3	2	2	3	52 (6,8%)
	positiv	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	15 (2%)

Auch in diesem Fall gilt, daß die Agglutination von *Renibacterium salmoninarum* durch die Fischseren eher schwach ausgeprägt war, wenn man sie mit der Reaktion des Kaninchen-Anti-KD-Serums vergleicht.

Tabelle 9: Agglutinationsergebnis der Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) in der Mikrotitermethode

	Fische	Teiche	Anlagen
Probenanzahl	765 (100%)	39 (100%)	29 (100%)
brauchbare Proben	707 (92,4%)		
negative Ergebnisse	640 (83,6%)	6 (15,4%)	6 (20%)
fragliche Ergebnisse	52 (6,8%)	25 (64%)	20 (69%)
positive Ergebnisse	15 (2%)	14 (36%)	12 (41%)

So konnten also nur in ca. 2% aller Serumproben der Regenbogenforellen spezifisch das *Renibacterium salmoninarum* agglutinierende Antikörper nachgewiesen werden. Sie stammen von 14 (Objektträgermethode) bzw. 15 (Mikrotitermethode) Forellen aus 12 Anlagen (siehe Tabelle 9).

B) Bachforellen

Aus drei Forellenteichanlagen, von denen zwei einem Betrieb angehören, war es möglich, Blutproben von Bachforellen (*Salmo trutta*) zu gewinnen.

Diese Bachforellen wurden zur Blutentnahme narkotisiert und anschließend in Frischwasser gegeben. Die klinische Untersuchung ergab bei allen keinen besonderen Befund.

Alle 53 Serumproben waren für den Agglutinationstest brauchbar. In folgender Tabelle (Tabelle Nr. 10) sind diese Bachforellen nach Anlagen getrennt aufgeführt. Das Untersuchungsergebnis ist ihnen zugeordnet.

Tabelle 10: Agglutinationstiter der Bachforellen (*Salmo trutta*) in der Objektträger- und Mikrotitermethode

Betrieb und Anlage	Anzahl der Serumproben	Alter in Jahren	Gewicht in g	Nutzungsart	Objektträgeragglutination		Mikrotiteragglutination							
					negativ	fraglich	positiv	negativ	fraglich	1:2	1:4	1:8	1:16	
1	15	3	750-1000	Zucht	10	2	3	10	2	1			2	
1	20	2	400	Zucht	18	1	1	18		1				1
2a	8	3	1500-2000	Zucht	8			7	1					
2b	10	1 ¹ / ₂	250-300	Besatz	5	1	4	6				3		1

4 53
(100%)

41
(77%)

8
(15%)

41
(82,4%)

3
(5,6%)

2
(2,8%)

2
(2,8%)

44
(83%)

9
(17%)

Aus Tabelle 10 ist ersichtlich, daß in 3 der 4 Anlagen 9 (17%) der 53 Bachforellen in der Agglutination positiv reagierten, d. h. spezifische agglutinierende Antikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* besaßen. Die Mikrotitermethode ergab einen positiven Reagenten mehr als die Objektträgermethode.

Jeweils 2 Serumproben ergaben einen Titer von 2, 8 und 16, und 3 einen Titer von 4. Der Titer wird als reziproker Wert der letzten Serumverdünnungsstufe angegeben. Gegenüber der Agglutinationsreaktion der Regenbogenforellen war die der Bachforellen wesentlich schneller und deutlicher. Das Ergebnis konnte in jedem Fall mit stark positiv (+++) bewertet werden.

C) Königslachse

Die Blutproben der drei Königslachse (*Oncorhynchus tshawytscha*) ergaben ein negatives Ergebnis.

3.2.2 Ergebnisse des HAH-Testes

A) Regenbogenforellen

Von den 765 Serumproben der Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) waren 27 für den HAH-Test unbrauchbar. Von diesen wurden die Schaferythrozyten bereits in der Serumkontrolle (siehe 2.5.2 A) auch nach wiederholter Inaktivierung agglutiniert.

Folgende Tabellen (Nr. 11 - Nr. 47) zeigen die Verteilung der positiven und negativen Reagenten unter den Regenbogenforellen.

Fragliche Ergebnisse bei der Serumverdünnungsstufe von 1:4 wurden als negativ bewertet. Der HAH-Titer wird als reziproker Wert der letzten positiven Serumverdünnungsstufe angegeben. Anzumerken ist, daß die Serumverdünnung von 1:2 in dem HAH-Test nicht geprüft wird, da Reaktionen in dieser Verdünnung unspezifischer Natur sein können. Demzufolge werden nur Titer ab 4 als positiv bewertet.

Tabelle 11: Betrieb 1

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Zuchtforellen:	Ø	12	60
Alter: 4 Jahre	4	6	30
Gewicht: 1,5 - 2 kg	8	1 (Nr.14)	5
Geschlecht: ♀ / ♂	16	1	5
Abstammung: Aus eigener jahr- zehntelanger Nach- zucht			

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Proben-Nr. 14 stammt von einer schwer er-
krankten Forelle (Haut- und Flossenschäden)

Tabelle 12: Betrieb 1

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Zuchtforellen:	Ø	12	60
Alter: 3 Jahre	4	2	10
Gewicht: 1,5 - 2 kg	4 - 8	2	10
Geschlecht: ♀ / ♂	8	3	15
Abstammung: s. o. Tabelle 11	16	1 (Nr.33)	5
Teichart: s. o. "			
Besatzdichte: s. o. "			

Besonderheiten: Proben-Nr. 33 stammt von einer Forelle mit
Haut- und Flossenschäden

Tabelle 13: Betrieb 1

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Zuchtforellen:	Ø	10	50
Alter: 2 Jahre	4	8	40
Gewicht: 600 - 800 g	8	1	5
Abstammung: Siehe Tabelle 11	8 - 16	1	5
Teichart: Naturteich			

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Die Forellen wurden aus einem intensiv gehaltenem Speisefischbestand zur Zuchtverwendung selektiert.

Aus den Tabellen 11 - 13 ist ersichtlich, daß 26 Regenbogenforellen (43%) dieses Betriebes im HAH-Test positiv reagieren. Der Großteil (16/26%) der positiven Titer beträgt 4. Zwei klinisch erkrankte Forellen haben einen deutlich erhöhten Titer (8 und 16). Insgesamt reagieren 34 (57%) der Forellen negativ.

Tabelle 14: Betrieb 2 Anlage 2a

	Titer	Anzahl	Anteil in %
22 Zuchtforellen:	Ø	22	100
Alter: 2 - 5 Jahre			
Gewicht: 0,7 - 2,5 kg			
Geschlecht: ♀ / ♂			

Abstammung: Es wurde vor ca. 15 Jahren aus Fischgut aus Baden-Württemberg ein eigener Zuchtstamm aufgebaut.

Teichart: Betonierte Wände und Kiesgrund

Besatzdichte: Mäßig

Tabelle 15: Betrieb 2 Anlage 2b

20 Speiseforellen:

Alter: 1¹/₂ Jahre

Gewicht: 250 - 300 g

Abstammung: Siehe Tabelle 14

Teichart: Vollbetoniert mit hohem Wasserdurchfluß

Besatzdichte: Hoch bis sehr hoch

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	17	85
4	3	15

Tabelle 16: Betrieb 2 Anlage 2b

20 Zuchtforellen:

Alter: 4 - 5 Jahre

Gewicht: 2 - 2,5 kg

Geschlecht: ♀

Abstammung: Siehe Tabelle 14

Teichart: Siehe Tabelle 15

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Die Forellen sind VHS-"Carrier" und waren vor einem Jahr klinisch daran erkrankt.

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	15	75
4	2	10
4 - 8	3	15

Tabelle 17: Betrieb 2 Anlage 2c

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	17	85
4	2	10
8	1	5

20 Speiseforellen:

Alter: 1³/₄ Jahre

Gewicht: Ca. 400 g

Abstammung: Siehe Tabelle 14

Teichart: Netzgehege/Baggersee

Besonderheiten: Zum Zeitpunkt der Blutentnahme waren diese Forellen klinisch an Furunkulose erkrankt und seit einigen Wochen mit einem Medizinalfutter (Neomycin) gefüttert worden.

Tabelle 18: Betrieb 2 Anlage 2c

Titer	Anzahl
Ø	3
4 - 8	1

4 Speiseforellen:

Alter: 2³/₄ Jahre

Gewicht: Ca. 1.200 g

Geschlecht: ♀

Abstammung: Siehe Tabelle 14

Teichart: Netzgehege/Baggersee

Besonderheiten: Siehe Tabelle 19

Aus den Tabellen 14 - 18 ist ersichtlich, daß im Betrieb 2 71 (82%) der 86 Regenbogenforellen ein negatives Resultat ergeben. 9 (10,5%) Serumproben ergaben einen HAH-Titer von 4 (4,6%), einen Titer von 4 - 8 und eine Serumprobe einen Titer von 8.

Tabelle 19: Betrieb 3

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	0	1	5
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4	7	35
Gewicht: 350 - 500 g	4 - 8	3	15
Abstammung: Als Eier aus	8	8	40
Anlage 11a	16	1	5

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Im Bestand wurden immer wieder Flossenschäden ungeklärter Ursache beobachtet. Die Niere einer Forelle war von weißgrauen speckigen Knoten von Stecknadelkopfgröße durchzogen. Da dieses Organ bei der Schlachtung verloren ging, konnte leider keine Zusatzuntersuchung erfolgen.

Tabelle 20: Betrieb 3

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	0	5	25
Gewicht: 700 - 1.000 g	4	10	50
Alter: 2 ¹ / ₂ Jahre	4 - 8	4	20
Geschlecht: ♀ / Nr. 8 ♂	8	1	5

Abstammung: Siehe Tabelle 16

Teichart: Siehe Tabelle 16

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Tabelle 16

6 (15%) der Serumproben des Betriebes Nr. 3 ergaben ein negatives Resultat. 17 (42,5%) von ihnen hatten einen HAH-Titer von 4. In 17 (42,5%) Proben konnten in Serumverdünnungsstufen höher als 1:4 spezifische HAH-Antikörper nachgewiesen werden. Die höchste lag bei 1:16.

Tabelle 21: Betrieb 4

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	Ø	11	55
Alter: 1 ¹ / ₂ - 2 Jahre	4	9	45

Gewicht: 300 g

Abstammung: Eigene Nachzucht

Teichart: Hälterteich mit starkem Wasserdurchfluß

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

9 (45%) der Serumproben ergaben einen HAH-Titer von 4,
die übrigen 11 (55%) waren negativ.

Tabelle 22: Betrieb 5

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	Ø	14	70
Alter: 3 Jahre	4	6	30

Gewicht: 350 - 400 g

Abstammung: Als Setzlinge aus einer bayrischen Fischzucht

Teichart: Betonierte Wände und Kiesgrund

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

6 (30%) der Serumproben ergaben einen HAH-Titer von 4,
die restlichen 14 (70%) waren negativ.

Tabelle 23: Betrieb 6

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	0	3	15
Alter: 2 - 3 Jahre	4	9	45
Gewicht: Ca. 300 g	8	8	40

Abstammung: Als Setzlinge aus einer

baden-württembergischen Fischzucht

Teichart: Betoniert

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: In diesem Bestand wurde vor kurzem VHS
diagnostiziert. Es wurde ein Sanierungs-
versuch eingeleitet.

17 (85%) der obigen Forellen reagieren positiv mit einem
HAH-Titer von 4 bzw. 8. 3 (15%) der Forellen hatten ein
negatives Ergebnis.

Tabelle 24: Betrieb 7

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	0	1	5
Alter: 2 ¹ / ₂ Jahre	4	12	60
Gewicht: 400 - 450 g	4 - 8	1	5
Abstammung: Aus Zukauf von Eiern	8	4	20
Teichart: Betoniert	unbrauch- bar	2	10

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

Besonderheiten: Ca. 50 - 60 mg freie H_2CO_3 pro l Wasser wird
im Quelltopf mit einem Flobull auf 20 mg/l
heruntergedrückt. Bei 3 Forellen wurden bei
der Schlachtung verdächtige Nierenveränderungen
beobachtet.

2 Serumproben waren unbrauchbar für den HAH-Test. Nur eine hatte ein negatives Ergebnis 17 (85%) der Forellen reagieren mit einem HAH-Titer von 4 und größer als 4 positiv. Zwei der Serumproben, die von Forellen mit veränderter Niere stammen, hatten einen Titer von 8.

Tabelle 25: Betrieb 8a

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Zuchtforellen:	Ø	16	80
Alter: 4 Jahre	4	4	20

Gewicht: Ca. 2 kg

Geschlecht: ♀

Abstammung: Eigene Nachzucht

Teichart: Betoniert, mit Quellwasser gespeist

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: Im Quellwasser zwischen 40 - 60 mg freie Kohlensäure pro l Wasser festgestellt.

Tabelle 26: Betrieb 8b

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	Ø	10	50
Alter: 2 Jahre	4	10	50

Gewicht: Ca. 300 g

Abstammung: Siehe Tabelle 22

Teichart: Betoniert, mit Bachwasser gespeist

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Es wurde von hohen und häufigen Temperaturschwankungen berichtet.

26 (65%) der Forellen ergaben ein negatives Ergebnis. Ein HAH-Titer von 4 war 14 mal (35%) vertreten und wurde nicht überschritten.

Tabelle 27: Betrieb 9

20 Speiseforellen:

Alter: 2 Jahre

Gewicht: 250 - 300 g

Abstammung: Als Eier aus Betrieb 11 und 17

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

Besonderheiten: Vereinzelt konnten bei der Schlachtung graue
Herde im Nierengewebe beobachtet werden.

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	4	20
4	16	80

16 (18%) der Forellen reagierten mit einem Titer von 4 positiv,
die übrigen 4 (20%) negativ.

Tabelle 28: Betrieb 10

20 Speiseforellen:

Alter: 3 Jahre

Gewicht: 400 - 450 g

Geschlecht: ♀ / ♂

Abstammung: Als Setzling aus Betrieb 11

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: Bei einer Forelle konnte bei der Schlachtung
graue Herde in der kaudalen Niere beobachtet
werden.

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	17	85
4	3	15

17 (85%) der Serumproben waren negativ. Nur 3 (16%) rea-
gierten mit einem HAH-Titer von 4 positiv.

Betrieb 11: In diesem Betrieb wurde in einer Anlage vor einigen Monaten an klinisch apparenten Fällen BKD diagnostiziert.

Tabelle 29: Betrieb 11a

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Zuchtforellen:	8	3	15
Alter: 3 - 4 Jahre	16	13	65
Gewicht: 1,5 - 2,5 kg	16-32	1	5
Geschlecht: ♀ / ♂	32	3	15
Abstammung: Aus jahrzehntealtem Zuchtstamm			

Teichart: Betoniert mit hohem Wasserdurchfluß

Besonderheiten: Einige der Forellen zeigten einen schlechten Allgemeinzustand (Flossenschäden, Augentrübung und geschwürige Hautveränderungen). Bei einer dieser erkrankten Forellen konnte Renibacterium salmoninarum durch Anzüchtung isoliert werden. (siehe 4.1).

Tabelle 30: Betrieb 11a

	Titer	Anzahl
5 Speiseforellen:	8-16	1
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	16	3
Gewicht: 500 g	32	1
Abstammung: Siehe Tabelle 26		

Teichart: Siehe Tabelle 26

Besatzdichte: Sehr hoch

Besonderheiten: Der Allgemeinzustand dieser frühwüchsigen Forellen war sehr gut. Aus einer Forelle konnte Renibacterium salmoninarum durch Anzüchtung isoliert werden (siehe 4.1). Ihre Niere zeigte verdächtige Veränderungen.

Tabelle 31: Betrieb 11a

30 Regenbogenforellen

(Zukunftslaicher):

Alter: 1¹/₂ Jahre

Gewicht: 500 - 600 g

Abstammung: Siehe Tabelle 26

Teichart: Siehe Tabelle 26

Besatzdichte: Sehr hoch

Besonderheiten: Diese Forellen wurden aus einem sehr fröh-
wüchsigen Speisefischbestand selektiert. Einige
Wochen zuvor wurden sie 4 Wochen mit Medizinal-
futter (Erythromycin) behandelt.

Titer	Anzahl	Anteil in %
Ø	7	23
4	20	67
8	3	10

Tabelle 32: Betrieb 11b

25 Speiseforellen:

Alter: 1¹/₂ Jahre

Gewicht: 400 g

Abstammung: Siehe Tabelle 26

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Es besteht Kontakt zwischen dem Fischbesatz
der 2 Anlagen 11a und 11b.
Es wurden bei der Schlachtung keine Nieren-
veränderungen beobachtet.

Titer	Anzahl	Anteil in %
16	8	32
16-32	6	24
32	11	44

Tabelle 33: Betrieb 11b

	Titer	Anzahl	Anteil in %
24 Zuchtforellen:	4-8	1	4
Alter: $2\frac{1}{2}$ - $4\frac{1}{2}$ Jahre	8	7	29
Gewicht: 0,7 - 2,5 kg	8-16	3	12,5
Geschlecht: ♀	16	10	42,5
Abstammung: Siehe Tabelle 26	16-32	2	8
Teichart: Naturteich	32	1	4
Besatzdichte: Mäßig			

Aus den Tabellen 29 - 33 geht hervor, daß nur 7 (3,8%) der 104 Serumproben des Betriebes 11 negativ waren. Sie gehören zu einer Gruppe (Tabelle 31) von Forellen, die sich durch niedrige positive Titer (20 mit Titer 4) von den anderen deutlich unterscheidet. Nur diese Gruppe ist mit Erythromycin vorbehandelt. 5 Forellen (Tabelle 30) wurden genau gleich wie diese 30 Zukunftslaicher aufgezogen, jedoch nicht mit Antibiotika vorbehandelt. Sie zeigen einen eindeutig hohen HAH-Titer von 8 - 32.

73 (76%) der Serumproben aus dem Betrieb 11 haben mindestens einen Titer von 8. Die Titer 16 und 16 - 32 sind 43 mal (41%) vertreten. In 16 (15,3%) der Proben konnten in einer Serumverdünnungsstufe von 1:32 spezifische HAH-Antikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* nachgewiesen werden. Die beiden Regenbogenforellen, aus deren Nieren *Renibacterium salmoninarum* durch Anzüchtung isoliert werden konnte, weisen einen HAH-Titer von 16 auf.

Tabelle 34: Betrieb 12

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	Ø	5	25
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4	8	40
Gewicht: Ca. 350 g	4 - 8	2	10
Abstammung: Als Setzlinge aus	8	5	25

Betrieb 11

Teichart: Betoniert

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

Besonderheiten: Vom Besitzer selber wurde bei der Schlachtung von Forellen gelegentlich Nierenveränderungen als Zufallsbefund festgestellt.

15 (75%) der Serumproben reagieren im HAH-Test positiv;

8 (40%) mit einem Titer von 4 und 7 (35%) höher als 4.

Tabelle 35: Betrieb 13

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	Ø	9	45
Alter: 2 Jahre	4	9	45
Gewicht: 400 - 450 g	4 - 8	1	5
Abstammung: Als Setzlinge aus	unbrauchbar	1	5

Betrieb 11

Teichart: Naturteich

Besatzdichte: Mäßig

Eine der Serumproben war für die HAH unbrauchbar. 9 (45%) der Forellen reagieren negativ im HAH, ebenso viel ergeben einen Titer von 4 und eine von 4 - 8.

Tabelle 36: Betrieb 14

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen	Ø	12	60
Alter: 1 - 1 ¹ / ₂ Jahre	4	4	20
Gewicht: 350 - 400 g	unbrauchbar	4	20

Abstammung: Als Eier aus Betrieb 11

Teichart: Betoniert

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

Besonderheiten: Es wurde 20 mg freie H_2CO_3 /l Wasser festgestellt. Vom Besitzer werden immer wieder Nierenveränderungen der Forellen bei der Schlachtung festgestellt. Die obige Forellengruppe ist bereits mehrfach mit antibiotischem Medizinalfutter behandelt worden.

12 (60%) der Probanden reagieren negativ; 4 ergeben einen positiven HAH-Titer von 4.

Tabelle 37: Betrieb 15

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	8	5	25
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	16	12	60
Gewicht: 300 - 350 g	32	3	15

Abstammung: Aus dem baden-württembergischen

Raum zugekauft

Teichart: Betoniert

Besatzdichte: Mäßig

Die Serumproben aus Betrieb 15 reagieren ausnahmslos positiv mit relativ hohem HAH-Titer über 8. 12 (60%) liegen bei einem HAH-Titer von 16. In 3 (15%) Proben können bei einer Serumverdünnungsstufe von 1:32 noch HAH-Antikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* nachgewiesen werden.

Tabelle 38: Betrieb 16

	Titer	Anzahl	Anteil in %
13 Speiseforellen	8	3	23,1
Alter: 1 ¹ / ₂ - 2 Jahre	8-16	3	23,1
Gewicht: 250 - 300 g	16	6	46,1
Abstammung: Als Eier aus Betrieb 11b	32	1	7,7

Teichart: Betonierte Hälterung

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: Bei der Blutentnahme fielen Flossen- und Hautschäden der Forellen auf. Vor wenigen Tagen wurde begonnen, ein Chemotherapeutikum wegen Furunkuloseverdacht einzusetzen. Vom Besitzer wurden gelegentlich veränderte Nieren beobachtet.

Die HAH-Titer der 13 Forellen sind alle positiv, wobei der Großteil (12) bei 8 und 16 liegt. Der Titer von 32 gehört zu einem Fisch, der deutliche Haut- und Flossenschäden aufwies.

Tabelle 39: Betrieb 17a

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	4	4	20
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4 - 8	2	10
Gewicht: Ca. 350 g	8	11	55
Abstammung: Eigene Nachzucht mit	16	2	10
Ursprung aus	16-32	1	5
Betrieb 11			

Teichart: Betonierte Wände und Kiesgrund

Besatzdichte: Hoch

Besonderheiten: Anlage mit Quellwasser versorgt.

Bei der Schlachtung im Anschluß an die Blutentnahme konnten verdächtige Nierenveränderungen festgestellt werden.

Tabelle 40: Betrieb 17b

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	4 - 8	2	10
Alter: 1 - 1 ¹ / ₂ Jahre	8	8	40
Gewicht: Ca. 350 g	8-16	4	20
Abstammung: Tabelle 36	16	4	20
Teichart: Naturteich	32	1	5
Besatzdichte: Hoch	unbrauchbar	1	5

Besonderheiten: Durch die Bachwasserversorgung sind die Forellen hohen Temperaturschwankungen ausgesetzt. Ebenfalls wurden gelegentlich Nierenveränderungen vom Besitzer beobachtet.

Tabelle 41: Betrieb 17c

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	4 - 8	3	15
Alter: 1 - 1 ¹ / ₂ Jahre	8	16	80
Gewicht: Ca. 250 g	16	1	5
Abstammung: Tabelle 36			

Teichart: Betonierte Wände und Kiesgrund

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: Die Forellen unterliegen im Sommer
einer hohen Wassertemperatur und einem
geringen Wasserzulauf bzw. -wechsel.

Aus den Tabellen 39 - 41 geht hervor, daß in allen Serum-
proben des Betriebes 17 spezifische HAH-Antikörper gegen
Renibacterium salmoninarum nachgewiesen werden konnten.

Der Großteil der HAH-Titer liegt bei 8 und 16, nämlich
46 (77%). 11 Serumproben haben einen Titer der niedriger
ist als 8 und 3 der höher als 16 ist.

Tabelle 42: Betrieb 18	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	4	2	10
Alter: $1\frac{1}{4}$ Jahre	4 - 8	2	10
Gewicht: 250 g	8	6	30
Abstammung: Als Eier aus	8-16	2	10
Betrieb 11 und 17	16	4	20
Teichart: Vollbetoniert	32	2	10
Besätzdichte: Mäßig	unbrauchbar	2	10

2 der Serumproben waren für den HAH-Test unbrauchbar. Die restlichen Seren reagieren alle positiv und sind wie in Tabelle 39 zu sehen relativ gleichmäßig auf Titer von 4 bis 32 verteilt. Ein Schwerpunkt liegt bei Titer 8 und 16, die 6 (30%) bzw. 4 (20%) mal vertreten sind.

Tabelle 43: Betrieb 19	Titer	Anzahl	Anteil in %
36 Zuchtforellen:	Ø	4	11
(Zukunftslaicher):	4	16	44,5
Alter: $2\frac{1}{2}$ - $3\frac{1}{2}$ Jahre	4 - 8	7	19,5
Gewicht: Ca. 600 - 1.000 g	8	9	25

Geschlecht: ♀ / ♂

Abstammung: Aus zugekauften Eiern (Inland)

Teichart: Naturteich

Besätzdichte: Gering bis mäßig

32 (89%) der Serumproben reagierten positiv, 16 (44,5%) mit einem HAH-Titer von 4. Zwischen den Titern von 4 und 8 und bei Titer 8 liegen ebenfalls 16 (44,5%).

Tabelle 44: Betrieb 20

	Titer	Anzahl	Anteil in %
20 Speiseforellen:	4	11	55
Alter: 1 ¹ / ₂ - 2 Jahre	4 - 8	3	15
Gewicht: Ca. 300 g	8	5	25
Abstammung: Als Eier von Betrieb 11 und 7	unbrauch- bar	1	5

Teichart: Betonierte Wände

Besatzdichte: Mäßig bis hoch

Eine der Serumproben war für den HAH-Test unbrauchbar.
11 (55%) der Forellen ergaben einen Titer von 4; 3 (15%)
einen Titer von 4 - 8 und 5 (25%) einen Titer von 8.

Tabelle 45: Betrieb 21

	Titer	Anzahl	Anteil in %
30 Speiseforellen:	Ø	2	6,7
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4	1	3,3
Gewicht: Ca. 250 - 300 g	8	7	23,3
Abstammung: Als Eier aus Betrieb 1 und 11	8-16 16	2 13	6,7 43,3
Teichart: Betonierte Hälterung	16-32	3	10
Besatzdichte: Derzeit mäßig	unbrauch- bar	2	6,6

Besonderheiten: Die Forellen sind in dieser Anlage großen
jahreszeitlichen Schwankungen (0 - 1°C bis
25°C) ausgesetzt. Eine VHS und IPN-Durch-
seuchung hat stattgefunden.

2 der 30 Forellenserum waren für die HAH unbrauchbar.
Nur 2 (6,7%) Serumproben reagierten negativ. Der Großteil
25 (83%) der Seren ergab einen HAH-Titer bei 8 und 16.

Tabelle 46: Betrieb 22

	Titer	Anzahl	Anteil in %
30 Speiseforellen:	0	2	6,7
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4	6	20
Gewicht: Ca. 200 - 250 g	4 - 8	1	3,3
Abstammung: Als Eier aus einer	8	6	20
Anlage im Spessart	8-16	2	6,7
Teichart: Betonierte Wände und	16	4	13,3
Lehmgrund	unbrauchbar	9	30

Besatzdichte: Mäßig

Besonderheiten: Die Forellen waren zur Blutentnahme etwas zu klein. Aus diesem Grund zeigten einzelne Blutproben starke Hämolyse!

9 der 30 Serumproben waren für den HAH-Test unbrauchbar. Bei 2 (6,7%) der Forellen konnten keine HAH-Antikörper nachgewiesen werden. Die HAH-Titer der 19 (66%) positiven Reagenten liegen relativ gleichmäßig zwischen 4 und 16.

Tabelle 47: Betrieb 23

	Titer	Anzahl	Anteil in %
26 Speiseforellen:	4	12	46,2
Alter: 1 ¹ / ₂ Jahre	4 - 8	2	7,7
Gewicht: Ca. 300 g	8	5	19,3
Abstammung: Keine Angabe	8-16	1	3,8
Teichart: Vollbetonierter Teich	16	1	3,8
mit hohem Wasserdurchfluß	unbrauchbar	5	19,2

Besatzdichte: Keine Angabe

5 der Forellenserren waren für den HAH-Test unbrauchbar. Keine der Serumproben reagierte negativ. Der Großteil, 19 (73%) der HAH-Titer liegt bei 4, 8 und dazwischen.

B) Bachforellen

Nur in einer Serumprobe der 53 Bachforellen (*Salmo trutta*) konnte in der Serumverdünnungsstufe 1:8 eine Hämagglutinationshemmung nachgewiesen werden. Diese Serumprobe war im Agglutinationstest negativ. Die restlichen Proben ergaben bis auf eine, die als fraglich bezeichnet werden mußte, ein negatives Ergebnis in der HAH.

C) Königslachse

Im HAH-Test hatte keine Serumprobe von den drei Königslachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) ein positives Ergebnis.

3.2.3 Übersicht der HAH-Ergebnisse der Regenbogenforellen

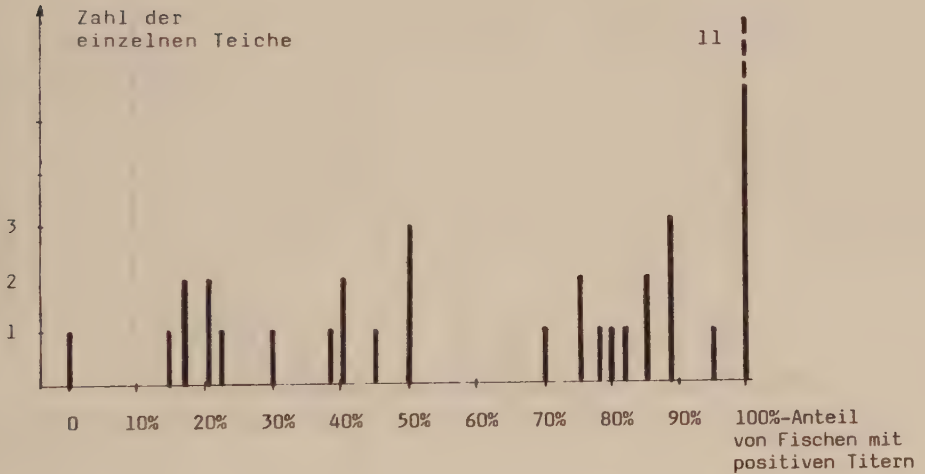
Folgende Tabelle und Abbildungen gliedern die Ergebnisse des HAH-Testes von der gesamten Anzahl (738) brauchbarer Serumproben der Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*).

Tabelle 48: HAH-Titer verteilt auf die Gesamtzahl (738) der Regenbogenforellen

HAH-Titer	Anzahl der Fische	Anteil in %
negativ	231	31,3
4	202	27,4
4 - 8	40	5,4
8	126	17,0
8-16	19	2,6
16	84	11,4
16-32	13	1,8
32	23	3,1
	738	100

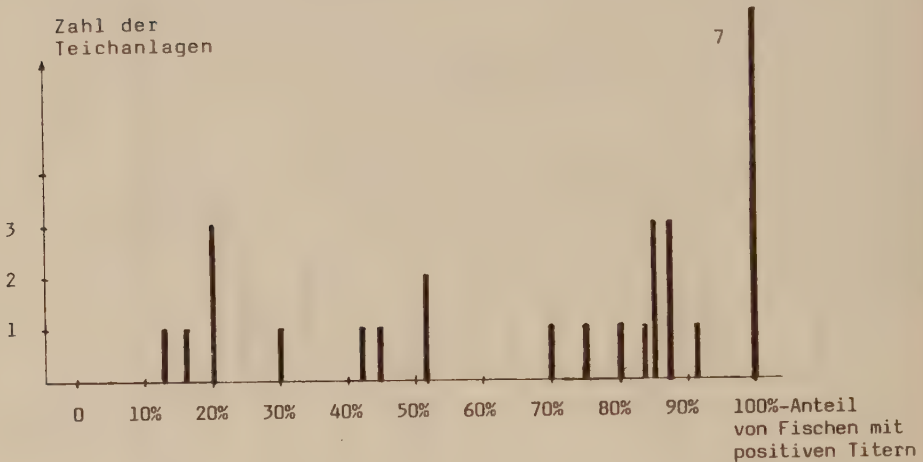
Aus Tabelle 48 ist zu ersehen, daß der kleinere Anteil aller Regenbogenforellen, nämlich 221 (31,3%) negativ reagierte. Der größere Anteil von 507 (68,7%) Forellen, reagierte positiv. Der HAH-Titer von 4 ist mit 202 (27,4%) am häufigsten vertreten. Ihm folgt der Titer von 8 mit 126 (17%), danach der Titer von 16 mit 84 (11,4%). 36 (4,9%) der Serumproben ergaben einen höheren Titer als 16.

Abbildung 7: Verteilung der 38 untersuchten einzelnen Teiche auf den Prozentanteil ihrer positiv reagierenden Serumproben



Die Abbildung 7 zeigt die Gesamtzahl der 38 untersuchten Forellenteiche verteilt auf den prozentualen Anteil positiver Reaktionen ihrer Serumproben. Aus 11 (29%) Forellenteichen ergaben alle gewonnenen Serumproben ein positives serologisches Ergebnis (100%). Nur ein Teich (2,6%) ergab ausschließlich negative Serumproben.

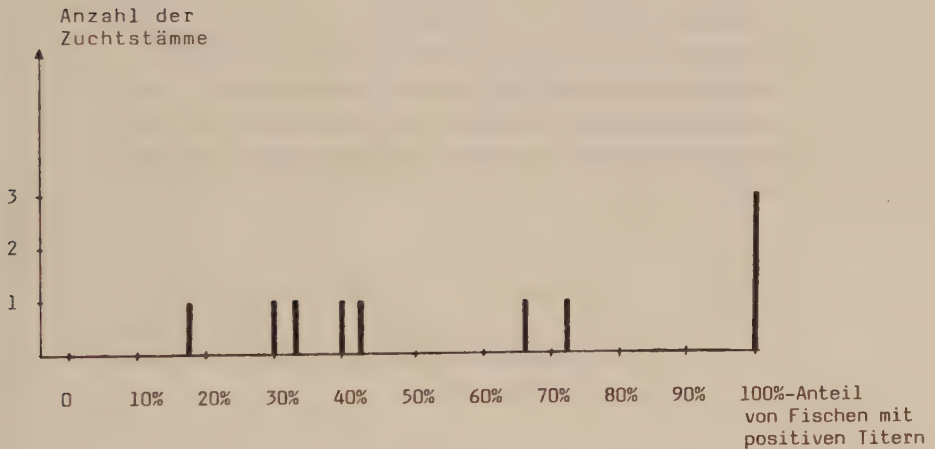
Abbildung 8: Verteilung der 29 untersuchten Forellenteichanlagen auf den Prozentanteil ihrer positiv reagierenden Serumproben



Die Abbildung 8 zeigt die Gesamtanzahl der 29 untersuchten Forellenteichanlagen verteilt auf den prozentualen Anteil positiver Reaktionen ihrer Serumproben. Aus 7 (24%) Forellenteichanlagen ergaben alle gewonnenen Serumproben ein positives serologisches Ergebnis (100%).

Aus den Abbildungen Nr. 7 und 8 ist die Verteilung des Anteils an positiven Serumreaktionen auf die einzelnen Teiche und auf die einzelnen Zuchtanlagen abzulesen. Nur ein Teich (2,6%) und eine Anlage (3,4%) ergaben ein negatives Ergebnis. Alle Serumproben aus 11 (29%) Teichen und 7 (24%) Teichanlagen ergaben einen positiven HAH-Titer.

Abbildung 9: Verteilung der untersuchten Regenbogenforellen-Zuchtstämme auf den Prozentanteil ihrer positiv reagierenden Serumproben



Die Abbildung 9 zeigt die Gesamtanzahl der 10 untersuchten und bekannten Zuchtstämme der Regenbogenforellen verteilt auf den prozentualen Anteil positiver Reaktionen ihrer Serumproben. Es ist zu erkennen, daß keiner der 10 Zuchtstämme frei von Serumantikörper gegen BKD ist, 3 (30%) von ihnen ergaben in allen Serumproben ein positives serologisches Ergebnis.

3.2.4 Vergleich der HAH- und Agglutinationsergebnisse

6 (0,8%) Serumproben von Regenbogenforellen aus 4 Teichen hatten sowohl agglutinierende als auch HAH-Antikörper. 9 weitere Serumproben, in der Agglutination positiv (Titer 2), waren im HAH-Test negativ.

Die Bachforellen (*Salmo trutta*) mit positivem serologischen Resultat in der Agglutination stammen aus Anlagen, in denen bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) positive HAH-Ergebnisse festgestellt wurden.

Tabelle 49: Serologisches Ergebnis von Anlage 1 und 2 mit Bachforellen (*Salmo trutta*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) im Überblick

Ergebnis	Anlage 1				Anlage 2			
	HAH		Agglutination		HAH		Agglutination	
	RF	BF	RF	BF	RF	BF	RF	BF
negativ	34 (57%)	34 (97%)	57 (95%)	30 (86%)	71 (82%)	18 (100%)	86 (100%)	14 (77%)
positiv	26 (43%)	1 (3%)	1 (1,6%)	5 (14%)	14 (17%)	--	--	4 (23%)

RF = Regenbogenforellen

BF = Bachforellen

Aus Tabelle Nr. 49 ist zu erkennen, daß der Prozentanteil positiver Agglutinationsreaktionen bei Bachforellen wesentlich größer ist als bei Regenbogenforellen. Der Prozentanteil positiver HAM-Reaktionen ist dagegen bei Regenbogenforellen größer als bei Bachforellen.

Betrachtet man nur die serologisch positive Reaktion, so reagieren in Anlage 1 die Regenbogenforellen mit einem größeren Prozentanteil als die Bachforellen positiv, dagegen liegt in Anlage 2 der größere Prozentanteil positiver Reaktionen bei den Bachforellen.

IV. Diskussion

1. Felduntersuchungsmethode

Agglutinierende Antikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* wurden bereits mehrmals bei atlantischen und pazifischen Lachsen nachgewiesen (EVELYN, 1971; BAUDIN-LAURENCIN et al., 1977; PATERSON et al., 1981). WEBER und ZWICKER (1979) fanden Agglutinine gegen *Renibacterium salmoninarum* bei natürlich infizierten atlantischen Lachsen (*Salmo salar*). Bei Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) und Bachforellen (*Salmo trutta*) gelang es SCHAUNER (1986) nach Infektionsversuchen und bei natürlich infizierten Fischen Antikörper gegen *Renibacterium salmoninarum* im Agglutinationstest nachzuweisen. Die Maximaltiter betrugen bei einem künstlich infizierten Fisch und bei natürlich infizierten bis 64.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei Regenbogenforellen in keinem Fall Agglutinationstiter über 2 festgestellt. Auch nicht in einem Betrieb, in dem nachweislich gehäuft BKD-Erkrankungen auftreten. Der Anteil der positiven Reagenten bei Regenbogenforellen in der Agglutination ist mit 15 (2%) Serumproben aus 12 Anlagen relativ gering.

9 von 59 Bachforellen (17%) hatten dagegen ein positives Ergebnis in der Agglutination. So ist der Anteil mit 17% absolut und auch bei der Betrachtung der Verteilung auf die einzelnen Anlagen bei den Bachforellen wesentlich größer als bei den Regenbogenforellen (siehe Tabelle 10). Die Agglutinationsreaktion der Bachforellenserum ist ebenso deutlich sichtbar und ausgeprägt wie bei den Kaninchen-Anti-KD-Seren. Im Gegensatz dazu reagieren die Regenbogenforellen eher schwach. Auch die Maximaltiter der

Bachforellen von 16 sind wesentlich höher.

Die HAH-Reaktion von SCHAUNER (1986), zum ersten Mal für die Serologie auf BKD erprobt, zeigte sich als empfindliche spezifische Methode bei den Regenbogenforellen. Bei den 738 brauchbaren Serumproben der für die vorliegende Arbeit untersuchten Regenbogenforellen waren 68,7% positiv. Die Maximaltiter betrugen 32. Nur eine der Bachforellen reagierte in der HAH positiv, alle anderen hatten bei dieser Untersuchungsmethode ein negatives Ergebnis.

Bei beiden serologischen Methoden handelt es sich um spezifische Nachweisverfahren der gegen *Renibacterium salmoninarum* gerichteten Antikörper. So konnten bei Regenbogenforellen aus SPF-Haltung spezifische Antikörper nie nachgewiesen werden (SCHAUNER, 1986). Im Verlauf eines Infektionsversuches wurden jedoch Antikörper gegen BKD-Erreger (HAH, Agglutination) gefunden. Die nicht infizierten, separat gehälterten Kontrollfische reagierten im serologischen Test immer negativ.

Die serologischen Untersuchungen bei Regenbogenforellen von SCHAUNER (1986) zeigten, daß die HAH eine empfindlichere und technisch besser auswertbare Methode ist als die Agglutination. Die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse lassen übereinstimmend den Schluß zu, daß sich die Agglutinationsreaktion für die serologischen Untersuchungen bei Bachforellen (*Salmo trutta*) besser eignet als die HAH. Umgekehrt ist die HAH die ergiebigere serologische Nachweismethode bei den Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) als die Agglutination. Die Ursache dafür ist ungeklärt. Möglicherweise werden durch die Infektion mit *Renibacterium salmoninarum* bei Regenbogenforellen und Bachforellen verschiedene Subklassen des Fisch-

immunglobulins (DORSON, 1972 a; ELLIS, 1982) zur Produktion angeregt. Die Tatsache, daß der Großteil der Serumproben nur entweder HAH- oder agglutinierende Antikörper besitzen und nur in Einzelfällen in der gleichen Serumprobe beide Antikörpergruppen vorkommen (siehe III. 3.2.4) unterstützt diese Vermutung.

2. Feldstatus

Die gegen Ende des 19. Jahrhunderts in Mitteleuropa eingebürgerte Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*) vermehrt sich selber kaum in unseren Wildgewässern (BOHL, 1982). So stammt gegenwärtig der Großteil der Regenbogenforellen in Wildgewässern und Hobbyteichanlagen aus haupt- und nebenberuflich betriebenen Anlagen. Aus diesem Grund lassen sich Untersuchungsergebnisse aus den großen Zuchtanlagen auch auf die Regenbogenforellenpopulation in Wildgewässern übertragen. Die Produktion und der Verkauf von Forelleneiern ist ein Geschäft, das nur von einigen wenigen Fischzüchtern getätigt wird. Betriebe ohne eigenen Zuchtstamm beziehen ihre Fische im wesentlichen als Eier und Setzlinge aus Betrieben mit eigener Nachzucht. Deshalb beschränkt sich die Herkunft des untersuchten Fischgutes im Untersuchungsgebiet auf wenige Zuchtstämme bzw. Forellenpopulationen, etwa 10 Stämme bei Regenbogenforellen aus dem Süden Baden-Württembergs. Bei der Bachforelle (*Salmo trutta*) verhält es sich anders. Sie ist der einheimische Salmonidenvertreter und vermehrt sich selber in unseren Wildgewässern, so daß darin auftretende Bachforellenpopulationen nicht mit denen in den Teichanlagen in enger Beziehung stehen müssen. Aus 2 Zuchtstämmen von Bachforellen in Teichanlagen konnten Serumproben gewonnen werden. In allen der in dieser Arbeit untersuchten bekannten Zuchtstämme wurden sowohl bei Regenbogenforellen als auch bei Bachforellen positive Serumproben festgestellt

(siehe Abbildung 9). Die einzelnen Anlagen mit und ohne Zuchtpopulationen verteilen sich auf den ganzen Süden Baden-Württembergs, so daß anzunehmen ist, daß sich Regenbogenforellen überall in diesem Raum mit dem BKD-Erreger auseinandersetzen, d. h. der Erreger ubiquitär vorhanden sein muß.

Der Handel mit Fischmaterial geht über die Grenzen von Baden-Württemberg hinaus. Dieser geographische Raum ist nur ein Teilgebiet im nationalen und internationalen Fischverkehr. Deshalb darf vermutet werden, daß der Erreger der BKD sehr weit verbreitet ist. In jüngster Zeit wurden auch in anderen Teilen der Bundesrepublik Deutschland BKD bei Regenbogenforellen zunehmend nachgewiesen, so in Bayern, Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen (PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 a; HOFFMANN et al., 1984; LEHMANN und MOCK, 1985; BERNOTH et al., 1985). Auch aus dänischen Salmonidenpopulationen konnte vor kurzem Renibacterium salmoninarum isoliert werden (HOFFMANN, persönliche Mitteilung, 1986).

3. "BKD-krankte" Fische und "BKD-Carrier"

In einer Anlage mit eigenem Regenbogenforellen-Zuchtstamm wurde bereits zuvor und im Verlauf der Untersuchungen dieser Arbeit Renibacterium salmoninarum durch Anzüchtung isoliert. Sie war bis zu diesem Zeitpunkt die einzige Anlage in Baden-Württemberg, von der bekannt war, daß sie auch Probleme mit BKD hat. Im Rahmen der Blutentnahme konnten in einigen anderen Anlagen verdächtige Nierenveränderungen festgestellt werden. Einige Besitzer berichteten über häufige oder gelegentliche Veränderungen, meist der kaudalen Niere, die bei der Schlachtung auffielen. In diesen 13 Anlagen wurde vorher BKD nicht diagnostiziert. Die serologische Untersuchung ergab einen zum

Teil hohen Anteil an positiven Reagenten mit unterschiedlichen Titern. Infolgedessen liegt es nahe, daß diese von Besitzern bei der Schlachtung der Fische beobachteten Nierenbefunde pathologische Veränderungen, bedingt durch BKD, darstellen.

Da nur bei einem geringen Anteil der untersuchten Fische eine genauere Befunderhebung und Erregerisolierung durch Anzüchten stattgefunden hat, kann man nicht alle untersuchten Fische in "BKD-krankte" und "BKD-Carrier" einteilen. Bei einem Großteil aller Probanden konnten trotz positiver serologischer Reaktion keine Symptome einer Erkrankung festgestellt werden. Serologische Untersuchungen auf BKD von SCHAUNER (1986) ergaben bei künstlich infizierten Regenbogenforellen im HAH-Test Titerhöhen bis zu 8. Demnach müssen sich Fische mit Titerhöhen bis zu 32 offensichtlich mit dem BKD-Erreger ständig auseinandersetzen bzw. sich über längere Zeit wiederholt infizieren. So vermehrt sich *Renibacterium salmoninarum* im Fisch, ohne zur klinisch apparenten Erkrankung zu führen. Wie von einigen Autoren (siehe II. 5.6) beschrieben, stellen diese "BKD-Carrier" vermutlich das Erregerreservoir dar, indem sie *Renibacterium salmoninarum* beherbergen und ausscheiden.

Selbst durch Festhalten vieler wichtiger Betriebsdaten im Rahmen dieser Arbeit kann der Ursprung der BKD für dieses Gebiet nicht mehr eruiert werden. Der Grund dafür ist, daß alle Betriebe bzw. Fischpopulationen positive Reagenten aufweisen. Besitzer einiger dieser Betriebe versicherten, daß bereits seit Jahrzehnten streng darauf geachtet wird, daß ihr Fischgut in der Anlage frei von jedem fremden Fischkontakt gehalten wird. Dies ist nur in Anlagen möglich, bei denen der Bach oder Fluß als Wasserversorgung keinen Wildfischbesatz hat. Zum Teil dienten die Forellenzucht-

stämme bereits über 50 Jahre zur eigenen Nachzucht im Betrieb und hatten, wie mit Sicherheit angenommen werden kann, keinen Kontakt zu pazifischen Lachsen. HOFFMANN et al. (1984) sowie PFEIL-PUTZIEN et al. (1985 b) vermuteten, daß durch Kontakt mit pazifischen Lachsen die BKD in die Forellenpopulation der Bundesrepublik Deutschland eingeschleppt wurde. Entweder muß dieser Kontakt lange Zeit zurückliegen, etwa in der 1. Hälfte dieses Jahrhunderts, oder das Renibacterium salmoninarum wurde mit der Einbürgerung der Regenbogenforellen aus den USA gegen Ende des 19. Jahrhunderts mitgebracht. Der Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*) wurde um die Jahrhundertwende aus Nordamerika nach Europa gebracht (NEWDICK, 1983). Es ist denkbar, daß auch mit ihm der BKD-Erreger eingeschleppt wurde.

Ein möglicher Hinweis auf ein frühes Auftreten der BKD könnte der Hinweis von PLEHN (1924) sein, die bei californischen Lachsen (*Oncorhynchus quinnat*) bakteriell bedingte Augenveränderungen fand, die denen bei der Erkrankung durch *Renibacterium salmoninarum* ähneln. Eine Anzucht von Bakterien gelang bei den in der Fischzuchtanstalt der Universität Toulouse gehaltenen Lachsen offensichtlich nicht.

Eine Verbreitung der Infektion in umgekehrter Richtung ist nicht auszuschließen. Schließlich ist zu Beginn unseres Jahrhunderts die Bachforelle (*Salmo trutta*) in die USA eingeführt worden (NEWDICK, 1983). Dagegen spricht aber, daß mit ihr nur Gewässer im Osten der USA besetzt wurden, während im Westen bereits *Renibacterium salmoninarum* weit verbreitet war. Der Westen der USA und Kanadas gilt heute noch als Hauptverbreitungsgebiet der BKD (SCHÄPERCLAUS, 1979; KLONTZ, 1982). So liegt es nahe, daß man Fischimport von Übersee nach Europa für die Anwesenheit von *Renibacterium salmoninarum* in Europa und in der BRD

verantwortlich machen kann.

4. Gesichtspunkte zur Epidemiologie, Immunologie und klinischen Apparenz der BKD

4.1 Epidemiologie

Die Annahme von KLONTZ (1982), daß die BKD weltweit in Salmonidenpopulationen auftritt, gilt auch für den Süden Baden-Württembergs und andere Bundesländer der BRD (HOFFMANN et al., 1984; PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 a, b; LEHMANN und MOCK, 1985; BERNOTH et al., 1985).

Ein saisonales Auftreten klinischer Symptome konnte durch Erhebung der Vorberichte in zwei Fällen festgehalten werden. Im Betrieb 1 waren jedes Jahr zu Winterende Verluste bei den Laichfischen ungeklärter Ursache aufgefallen. In der Untersuchung hatten Laichfische in offensichtlich schlechtem Allgemeinzustand jeweils höhere Titer als unauffällige Forellen (siehe Tabelle 11 und 12). Mit großer Wahrscheinlichkeit handelte es sich in diesen Fällen um an BKD klinisch erkrankte Forellen.

Im Betrieb 11 konnte Renibacterium salmoninarum mehrfach aus Regenbogenforellen isoliert werden (siehe III. 3.1). Hier stimmt der Schwerpunkt gehäuften saisonalen Auftretens im späten Frühjahr und Sommeranfang mit den Beobachtungen von MITCHUM et al. (1979) überein.

Weitere Erkenntnisse zur Erregerverbreitung konnten durch die Untersuchung und anamnestischen Erhebungen dieser Arbeit nicht gewonnen werden.

4.2 Immunologie

In mehreren Fällen, siehe Betrieb 1, 3, 11a, b, 13, 17, a, b, c (III. 3.2.2), fällt ein Zusammenhang zwischen Höhe sowie Anteil positiver Titer und gelegentlichem Vorkommen klinischer Symptome auf. So wurden typische Nierenveränderungen oder Haut- und Flossenaffektionen festgestellt, die nicht einer Infektion mit *Aeromonas salmonicida* oder anderen Bakterien zugeschrieben werden konnten. Serumproben aus diesen Anlagen hatten hohe Titer von 8 - 32 gegen den BKD-Erreger. Denkbar ist, daß diese vereinzelt an BKD erkrankten Fische über ihre Erregerausscheidung zu vermehrtem und wiederholtem Kontakt des gesamten Fischbestandes mit *Renibacterium salmoninarum* führen und so gesteigerte immunologische Reaktionen auch der nicht erkrankten Forellen veranlassen.

Regenbogenforellen, denen einige Wochen bis wenige Monate zuvor Antibiotika (Erythromycin, Neomycin, Sulfonamid und Trimethoprim) über die Fütterung appliziert worden war, wiesen auffallend wenig positive Reaktionen und geringe Antikörpertiter im HAH auf (Betrieb 2, 11a, 14; siehe III. 3.2.2). In einem Fall wuchsen Regenbogenforellen einer Anlage zusammen und unter gleichen Bedingungen auf. Ein Teil davon wurde als Zukunftslaicher selektiert. Ihnen wurde 2 x 8 Tage lang im Abstand von 14 Tagen Erythromycin über das Futter verabreicht. Die übrigen gleichaltrigen Fische hat man unter gleichen Bedingungen gehalten und normal gefüttert. Nach ca. 2 Monaten erfolgte die Blutentnahme von Forellen beider Gruppen (siehe III. 3.2.2, Tabelle 30 und 31). Die unbehandelten Fische und Forellen anderer Altersklassen aus dieser Anlage hatten durchweg hohe Titer (16 - 32), während bei den behandelten Zukunftslaichern die serologischen Untersuchungsergebnisse durch niedere

Titer (4 - 8) auffielen oder negativ waren (siehe Tabelle 29-31).

Offensichtlich hat eine Erythromycin- bzw. Antibiotika-applikation Auswirkungen auf die immunologische Reaktion der Forellen. Eine mögliche Ursache dafür könnte auf eine verminderte Antikörperproduktion durch Hemmung der Proteinbiosynthese des Makrolid-Antibiotikums beruhen.

Ferner kann Erythromycin, wie HICKS und GERACI (1984) zeigten, toxisch für den exkretorischen Teil der Fischniere sein. Es ist noch ungeklärt, ob der immunkompetente Teil der Niere mitgeschädigt und dadurch eine Immunsuppression verursacht wird.

Renibacterium salmoninarum ist für Erythromycin hochempfindlich und deshalb wird dieses von einigen Autoren zur Behandlung empfohlen (KLONTZ, 1978; HODGES 1978; BULLOCK et al., 1978; PETERSON, 1982; KLONTZ, 1982; HOFFMANN et al., 1984). Vorstellbar ist, daß dadurch die Vermehrung von Renibacterium salmoninarum im Fisch gehemmt wird und somit auch weniger oder keine Erreger ausgeschieden werden. So fehlt nach erstem Erregerkontakt der "BOOSTER"-Effekt und die erhöhte Antikörperreaktion bleibt aus.

4.3 Klinische Apparenz

Eine Frage stellt sich während der Beurteilung der Ergebnisse immer wieder. In allen Betrieben und in über $\frac{2}{3}$ aller Serumproben konnten Antikörper gegen den BKD-Erreger gefunden werden: Warum hatten aber nur wenige Anlagen vereinzelt klinisch apparente Fälle oder nur eine Anlage Probleme mit Verlusten durch BKD?

4.3.1 Äußere oder umweltbedingte Faktoren

WARREN, 1963; MITCHUM et al., 1979; KLONTZ, 1982; berichten über einen Zusammenhang der Gesamthärte des Wassers mit Morbidität und Mortalität bei BKD. Im gesamten Alpenvorland und auf der Schwäbischen Alb betragen die Wasserhärten der Forellenzuchtanlagen bis auf wenige Ausnahmen zwischen 15 - 20 °dH. Das Wasser aller untersuchten Zuchtanstalten aus dem Schwarzwald hatte Gesamthärten unter 5 °dH.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Verteilung und Höhe von positiven Serumtitern unabhängig vom Gesamthärtegrad auftritt. Auch bezogen auf klinische Erscheinungen konnte kein Zusammenhang gefunden werden.

In allen Fällen, in denen gelegentlich oder häufig Nierenveränderungen sowie Haut- und Flossenschäden als Symptome der BKD beobachtet wurden, ist die Haltung der Forellen als intensiv zu bezeichnen. Die Besatzdichten in 8 solcher Anlagen erreichten 50 - 100 kg/m³. 7 dieser Anlagen hatten höhere und häufiger positive HAH-Titer, als die Anlagen, in denen nur Besatzdichten unter 50 kg/m³ erreicht wurden. Aus diesem Grund muß man annehmen, daß sehr hohe Besatzdichten von Forellen trotz optimaler Wasserqualität die Infektion und die klinische Erkrankung durch Renibacterium salmoninarum begünstigen. Dies stimmt mit Beobachtungen von MITCHUM et al., (1979) und KLONTZ (1982), daß der Infektionsdruck auf BKD bei hoher Fischdichte erhöht wird, überein.

Im Rahmen dieser Arbeit war ein direkter Zusammenhang zwischen Wasserbelastung und BKD-Erkrankung, wie von WEDEMEYER (1976) dargestellt, nicht feststellbar. Die durch intensive Haltung und Fütterung bedingte Wasserbelastung (O₂-Mangel, NH₃- und CO₂-Anreicherung) wurden in den untersuchten Anlagen entweder durch hohen Wasserwechsel oder Belüftungsmaßnahmen ausgeglichen.

Dies sind ja zwingende Maßnahmen, um eine gute Wachstumsleistung der Fische zu garantieren (BOHL, 1982).

4.3.2 Innere oder somatische Faktoren

Von den in II. 5.5.2 aufgeführten Faktoren sind die Stressoren, denen ein Fisch ausgesetzt sein kann, von besonderer Bedeutung (WARREN, 1963 a; WEDEMEYER, 1976; PFEIL-PUTZIEN et al., 1985 a, b). In vielen Fällen wurden zum Teil auch vom Besitzer Zusammenhänge zwischen Streßbelastung und Auftreten von Krankheitssymptomen festgestellt. Nach dem Laichgeschäft, nach Umsetzen und Sortieren von Fischen sowie während sehr intensiver Haltung und Fütterung häuften sich Krankheitserscheinungen. Forellen, die bei normaler Fütterung an sich bereits frohwüchsig waren, wurden durch erhöhte Futtergaben zu beschleunigtem Wachstum veranlaßt. Serumproben solcher Forellen hatten nahezu immer hohe positive Titer und vereinzelt veränderte Nieren. Möglicherweise sind diese Fische durch die hohe Stoffwechselbelastung abwehrgeschwächt, und das *Renibacterium salmoninarum* vermag sich dadurch stärker zu behaupten und zu Reinfektionen zu führen.

WOOD und YASUTAKE, 1956; YAMAMOTO, 1975 nahmen an, daß virale Primärinfektionen wie IPN und Parasiten den Verlauf der BKD-Erkrankung negativ beeinflussen. Von 5 in der vorliegenden Arbeit untersuchten Forellenzuchtanlagen wurde von Problemen mit viralen Infektionen wie VHS und IPN berichtet. Die Untersuchungsergebnisse dieser Anlagen im Vergleich zu denen der übrigen ließen keine Unterschiede im Anteil positiver Reagenten oder in klinischer und pathologischer Veränderungen erkennen.

4.3.3 Immunität

Über $\frac{2}{3}$ aller untersuchten Serumproben und in 28 von 29 Anlagen konnten bei Bachforellen (*Salmo trutta*) und Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) spezifische, gegen *Renibacterium salmoninarum* gerichtete Antikörper gefunden werden. Hohe Serumtiter können nicht nur eine Folge von Reinfektionen sein, sondern auch eine schützende Immunität darstellen (PATERSON et al., 1981 a). Vorstellbar wäre, daß Forellen, empfänglich für den Erreger der BKD, sich vor der Erkrankung durch Serumantikörper schützen können und somit aus diesem Grund nicht klinisch apparent erkranken. Dagegen spricht aber, daß, wenn die Abwehrkräfte durch umweltbedingte oder somatische Faktoren geschwächt werden, die Infektionen zum Krankheitsausbruch führen kann und die BKD somit unter die Faktorenerkrankung einzuordnen ist. Die an BKD erkrankten Regenbogenforellen zeigten meist einen besonders hohen positiven HAH-Titer. So ist anzunehmen, daß die Serumantikörper, die durch diesen HAH-Test nachgewiesen werden, keine Schutzinfektion gegen *Renibacterium salmoninarum* haben.

4.3.4 Antibiotische Versorgung

Seit Jahren verwenden die Fischzüchter Arzneimittel, um Krankheiten zu bekämpfen. In vielen Betrieben werden verschiedene Antibiotika gegen *Aeromonas salmonicida*-Infektionen therapeutisch und methaphylaktisch eingesetzt. Sulfonamide und Trimethoprim, Neomycin, Furazolidonerivate sowie Oxytetracycline werden zu diesem Zweck oral verabreicht. *Renibacterium salmoninarum* ist gegen diese Antibiotika in in-vitro-Resistenzversuchen hoch empfindlich (WOLF und DUNBAR, 1959 a; AUSTIN und RODGERS, 1980; SANDERS und FRYER, 1980). Man könnte nun glauben, eine Antwort auf die Frage gefunden zu haben, warum trotz Existenz von Reni-

bacterium salmoninarum in untersuchten Forellenzuchtbetrieben die klinische Erkrankung so selten auftritt. Das *Renibacterium salmoninarum* wird durch die regelmäßigen Antibiotikagaben an seiner Vermehrung gehindert. Der Erreger wird im Fisch zwar nicht eliminiert, aber seine Virulenz wird herabgesetzt, so daß die BKD-Infektion nur noch selten zur BKD-Erkrankung führt.

Diesem Gedankengang widerspricht ganz eindeutig die Tatsache, daß im Untersuchungsgut zahlreiche positive Seren aus Betrieben stammen, in denen die Fische nach zuverlässiger Auskunft des betreuenden Tierarztes solche Antibiotikagaben nicht erhalten und klinische Erkrankungen durch die BKD nicht beobachtet wurden. Außerdem stimmt die *in vivo*-Empfindlichkeit von *Renibacterium salmoninarum* nicht mit der *in vitro* Empfindlichkeit gegenüber oben genannte Antibiotika und Chemotherapeutika überein. *Renibacterium salmoninarum* läßt sich nicht erfolgreich mit ihnen bekämpfen.

V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden 821 Serumproben von Salmoniden - 765 Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*), 53 Bachforellen (*Salmo trutta*), 3 Königslachsen (*Oncorhynchus tshawytscha*) - aus 30 Teichanlagen aus dem südlichen Raum von Baden-Württemberg auf Antikörper gegen den BKD-Erreger *Renibacterium salmoninarum* untersucht. Als serologisches Nachweisverfahren diente die Agglutination und der Hämagglutinationshemmungstest (HAH-Test).

Struktur und Führung der einzelnen Betriebe wurden durch ausführliche anamnestische Erhebung festgehalten.

Es wurden folgende Resultate erzielt:

- 1) Als serologische Untersuchungsmethode auf *Renibacterium salmoninarum* eignet sich die Agglutinationsreaktion gut für die Bachforellen, weniger der HAH-Test. Dagegen stellt der HAH-Test bei Regenbogenforellen die wesentlich bessere Methode dar als die Agglutination.
- 2) In Serumproben aus 28 von 29 untersuchten Forellenteichanlagen dieses geographischen Raumes konnten serologisch positive Reagenten gefunden werden. Lediglich Serumproben einer Anlage hatten negative Resultate.
- 3) In Betrieben, in denen vereinzelt klinisch sowie pathologische Symptome der BKD auffielen, ergab die Untersuchung vermehrt positive Reagenten mit höheren Serumtitern.

- 4) Die serologischen Ergebnisse zeigen, daß eine Antibiotikaapplikation (Erythromycin) Höhe und Anteil positiver Serumtiter der Regenbogenforellen trotz Kontakt mit *Renibacterium salmoninarum* erheblich vermindert.

- 5) Der Vergleich der serologischen Ergebnisse mit den anamnestischen Erhebungen aus den Betrieben läßt den Schluß zu, daß der klinische Verlauf der Erkrankung an *Renibacterium salmoninarum* durch somatische und umweltbedingte Faktoren wesentlich beeinflußt wird. Hierzu zählen hohe Besatzdichten, saisonale Bedingungen und Stressoren wie Laichgeschäft, forcierte Mast, Transport und Umsetzen von Forellen.
Dagegen konnte kein Einfluß der Gesamthärte des Wassers und von viralen Primärinfektionen auf den klinischen Verlauf der BKD festgestellt werden.

Serological Studies on the distribution of Bacterial
Kidney Disease (BKD) in Southern Baden-Württemberg.

VI. Summary

A total of 821 sera from salmonids - 765 rainbow trout (*Salmo gairdneri*), 53 brown trout (*Salmo trutta*), 3 king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) - out of 30 trout farms in Southern Baden-Württemberg were examined for antibodies against the causative agent of BKD (*Renibacterium salmoninarum*). As serological tests microtiter agglutination and hemagglutination-inhibition (HI) - test were used.

Details of type and management of the farms were recorded.

The following results were obtained:

1. The agglutination-test was the most suitable test for detection of antibodies against *Renibacterium salmoninarum* in brown trout, while the HI-test appeared less suitable. In rainbow trout, however, the HI-test was much more effective than the agglutination test.
2. Positive serum samples were detected in 28 out of the 29 trout farms investigated. Sera of only one farm had no KD-antibodies.
3. A higher incidence of positive reactants with increased serum titres was found in farms, where clinical signs or pathological evidence of BKD were noted.

4. The serological results show that treatment of rainbow trout with an antibiotic (erythromycin) lowered titre and quantity of positive sera even if there was intensive contact with *Renibacterium salmoninarum*.
5. Comparison of the serological results with details of type and management of the farms suggest, that the clinical course of BKD is influenced substantially by somatic and environmental factors. These include high stocking density, seasons and stress conditions such as spawning time, high level of nutrition, transport and change of location.
We were unable to demonstrate any noticeable effect of water hardness and primary viral infections on the clinical course of BKD.

VII. Literaturverzeichnis

- Acton, R. T., Weinheimer, P. F., Hildeman W. H.
and E. E. Evans (1971):
Bactericidal antibody response in the
pacific hagfish, *Eptatretus stoutii*.
Infection Immunity 4, 160 - 166
- Agius, C. (1979):
The role of melano-macrophage centres in
iron storage in normal and diseased fish.
J. Fish Dis. 2, 337 - 343
- Agius, C. (1980):
Phylogenetic development of melano-macro-
phage centres in fish.
J. Zool 191, 11 - 32
- Aldrin, J. F., Mevel, M. et J. Y. Robert (1977):
Premières observations sur la corynébactériose
des salmonidés en Bretagne.
Bull. Off. Int. Epiz. 87, 499 - 503
- Allison, L. N. (1961):
The fate of kidney disease among hatchery
brook trout stocked in natural waters.
Prog. Fish. Cult. 23, 76 - 78
- Ambrosius, H. und W. Schäker (1964):
Beiträge zur Immunbiologie poikilothermer
Wirbeltiere. I. Immunologische Untersuchungen
an Karpfen (*Cyprinus carpio* L.).
Zool. Jb. Physiol. 71, 73 - 88

- Amend, D. F. and Johnson, K. A. (1981):
Current status and future needs of *Vibrio anguillarum* bacterins. Developments in Biological Standardization.
Symposium on Fish Biologies:
Serodiagnostics and Vaccines 49, 403 - 417
- Amend, D. F. and Johnson, K. A., Croy, T. R. and D. H. McCarthy (1983):
Some factors affecting the potency of *Yersinia ruckeri* bacterins.
Journal of Fish Diseases 6, 337 - 344
- Amend, D. F. and K. A. Johnson (1984):
Evidence for lack of antigenic competition among various combinations of *vibrio anguillarum*, *yersinia ruckeri*; *aeromonas salmonicida* and *renibacterium salmoninarum* bacterins when administered to salmonid fishes.
J. Fish Dis. 7, 293 - 299
- Amlacher, E. (1981):
Taschenbuch der Fischkrankheiten.
4. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- Amlacher, E. (1986):
Taschenbuch der Fischkrankheiten.
5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena
- Anderson, D. P. and G. W. Klontz (1970):
Precipitating antibody against *aeromonas salmonicida* in serums of inbred albino rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
J. Fish. Res. Board Ca. 27, 1389 - 1393

- Austin, B. and C. J. Rodgers (1980):
Diversity among strains causing bacterial
kidney disease in salmonid fish.
Cur. Microbiol. 3, 231 - 235
- Austin, B. Embley, T. M. and M. Goodfellow (1983):
Selective isolation of Renibacterium
salmoninarum.
FEMS Microbiol. Lett. 17, 111 - 114
- Avtalion, R. R., Weiss, E. and T. Moalem (1976):
Regulatory effects of temperature upon
immunity in ectothermic vertebrates.
In: Marchalonis, J. J., Comparative
Immunology, Blackwell Scientific
Publications, Oxford
- Avtalion, R. R., Wishkovsky, A. and D. Katz (1980):
Regulatory effect of temperature on specific
suppression and enhancement of the humoral
response in fish.
In: Manning, M. J., Phylogeny of Immuno-
logical Memory, Elsevier/North Holland
Biochemical Press, Amsterdam
- Avtalion, R. A., Wojdani, A., Malik, Z., Shahrabani, R.
and M. Duczyminer (1973):
Influence of environmental temperature on
the immune response in fish.
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 61, 1 - 35
- Baudin-Laurencin, F., Vignenille, M. et M. Mevel (1977):
Premières observations sur la Corynebactériose
des Salmonidés en Bretagne.
Bull. Off. int. Epiz. 87, 505 - 507

Belding, D. L. and B. Merrill (1935):

A preliminary report upon a hatchery disease
of the salmonidae.

Trans. Am. Fish. Soc. 65, 76 - 84

Bell, G. G. (1961):

Two epidemics of apparent kidney disease
in cultured pink salmon (*Oncorhynchus*
gorbuscha).

J. Fish Res. Board Can. 18, 559 - 562

Bendele, R. A. Jr. and G. W. Klontz (1975):

Histopathology of teleost kidney diseases.

In: Ribelin, W. E. and G. Migaki,

The Pathology of Fishes, The University
of Wisconsin in Press, London

Bernoeth, D. M., Böhm, K. H., Mock, D., Lehmann, J. and
Körting, W. (1985):

Further spread of BKD in Germany

Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 5 (3), 61

Bisset, K. A. (1948):

The effect of temperature upon antibody
production in cold-blooded vertebrates.

J. Path. Bact. 60, 87 - 92

Bohl, M. (1982):

Zucht und Produktion von Süßwasserfischen
DLG-Verlag, Frankfurt (Main)

Bruno, D. W. and A. L. Munro (1982):

Detection of the causative agent of
bacterial kidney disease.

Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 2, 11 - 12

- Bullock, G. L., Conroy, D. A. and S. F. Snieszko
(1971):
Bacterial Diseases of Fishes.
In: Bullock, G. L. and H. R. Axelroad,
Diseases of Fishes, Book 2A, T. F. H.
Publications, New York, Toronto
- Bullock, G. L., Griffin, B. R. and H. M. Stuckey
(1980):
Detection of corynebacterium salmoninus
by direct fluorescent antibody test.
Can. J. Fish. Aquat. Sci. 37, 719 - 721
- Bullock, G. L. and H. M. Stuckey (1975):
Fluorescent antibody identification and
detection of the corynebacterium causing
kidney diseases of salmonids.
J. Fish. Res. Board Can. 32, 2224 - 2227
- Bullock, G. L., Stuckey, H. M. and P. K. Chen (1974):
Corynebacterial kidney disease of salmonids:
Growth and serological studies of the cau-
sative bacterium.
Appl. Microbiol. 28, 811 - 814
- Bullock, G. L., Stuckey, H. M. and D. Mulcahy (1978):
Corynebacterial kidney disease, egg trans-
mission following iodophore disinfection.
Fish Health News 7, 51 - 57
- Carl, G. C., Clemens, W. and A. Lindsey (1977):
The Freshwater Fishes of British Columbia.
Handbook Nr. 5 of the British Columbia
Provincial Museum, Canada

- Chen, P. K., Bullock, G. L., Stuckey, H. M. and
A. C. Bullock (1974):
Serological diagnosis of corynebacterial
kidney disease of salmonids.
J. Fish. Res. Board Can. 31, 1939 - 1940
- Chiller, J. M., Hodgins, H. O. and R. S. Weiser (1969 b):
Antibody response in rainbow trout
(*Salmo gairdneri*) II. Studies on the kinetic
development of antibodyproducing cells and
on complement and natural hemolysin.
J. Immunol. 102, 1202 - 1207
- Clem, L. W. and W. E. McLean (1975):
Phylogeny of immunoglobulin structure and
function. VII. Monomeric and tetrameric immuno-
globulins of the margate, a marine teleost
fish.
J. Immunol. 29, 791 - 799
- Corbel, M. J. (1975):
The immune response in fish: a review.
J. Fish Biol. 7, 539 - 563
- Döller, G. and P. J. Enzmann (1982):
Induction of baculovirus specific antibodies
in rainbow trout and carp.
Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 2, 53 - 55
- Dorson, M. (1972 a)
Some characteristics of antibodies in the
primary immune response of rainbow trout,
Salmo gairdneri. Mawdesley-Thomas, Diseases
of Fish, Academic Press, London, New York

- Earp, B. J., Ellis, C. H. and E. J. Ordal (1953):
Kidney disease in young salmon.
Wash. Dept. Fish. Spec. Rep. Ser. Nr.1, 74 S.
- Ellis, A. E. (1976):
Leucocytes and related cells in the plaice
(*Pleuronectes platessa*).
J. Fish Biol. 8, 143 - 156
- Ellis, A. E. (1977 a):
The leucocytes of fish: A review.
J. Fish Biol. 11, 453 - 491
- Ellis, A. E. (1980):
Antigen trapping in the spleen and kidney
of the plaice (*Pleuronectes platessa*).
J. Fish Dis. 3, 413 - 426
- Ellis, A. E. (1982):
Differences between the immune mechanisms
of fish and higher vertebrates.
In: Roberts, R. J., Microbial Diseases of
Fish, Special Publications of the Society
for General Microbiology, Nr. 9,
Academic Press, London
- Ellis, R. W., Novotny, A. I. and L. W. Harrell (1978):
Case report of kidney disease in a wild
chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*,
in the sea.
J. Wildl. Dis. 14, 120 - 123
- Evelyn, T. P. T. (1971):
The agglutination response in sockeye salmon
vaccinated intraperitoneally with a heat-killed
preparation of the bacterium responsible for
salmonid kidney disease.
J. Wildl. Dis. 7, 328 - 335

Evelyn, T. P. I. (1977):

An improved growth medium for the kidney disease bacterium and some notes on using the medium.

Bull. Off. int. Epiz. 87, 511 - 513

Evelyn, T. P. I., Hoskins, G. E. and G. R. Bell (1973):

First record of bacterial kidney disease in an apparently wild salmonid in British Columbia.

J. Fish. Res. Board Can. 30, 1578 - 1580

Evelyn, T. P. I., Ketcheson, J. E. and L. Prosperi-Porta (1981):

The clinical significance of immunofluorescence-based diagnoses of the kidney disease carrier.

Fish Pathol. 15, 293 - 300

Evelyn, T. P. I., Prosperi-Porta, L. and J. E. Ketcheson (1984):

The salmonid egg as a vector of the kidney disease bacterium, *Renibacterium salmoninarum*.

Fish Diseases - Enfermedades de los Peces, Fourth COPRAQ Session, Cadiz 1981, Hrsg.

Acirgrup, Spanien

Fijan, N. (1977):

Corynebacteriosis (dee disease, kidney disease) of salmonids in Yugoslavia.

Bull. Off. int. Epiz. 87, 509

Fletcher, T. C. and P. I. Grant (1969):

Immunoglobulins in the serum and mucus of the plaice (*Pleuronectes platessa*).

Biochem. J. 115, 65

Frantsi, C., Flewelling, T. C. and K. G. Tidswell
(1975):

Investigations on corynebacterial kidney
disease and diplostomum sp. (eye fluke)
at Margaree hatchery 1972-73.

Environment. Canada Fisheries and Marine
Service. Resource Development Branch Maritimes
Region, Technical report series MART-75-9

Frantsi, C. J., A. Ritter and P. F. Elsan (1977):

Effect of corynebacterial kidney disease on
ocean survival and return of Atlantic Salmon
(*Salmo salar*)

Int. Counc. Explor. Sea. Anad. Catad. Fish.
Comm. Rep. C. M. 1977/M:29:6p

Fryer, J. L., Nelson, J. S. and Garrison F. L. (1978):

Immunisation of salmonids for control of
vibriosis.

Marine Fisheries Review 40, 20 - 23

Fryer, J. L., Pilcher, K. S., Sanders, J. E.,

Rohovec, J. S., Zinn, J. L., Groberg, W. J.
and McCoy, R. H. (1976):

Temperature, infectious disease and the immune
response in salmonid fish.

United States Department of Commerce.
National Technical Information Service,
PB-253 191 72pp.

Fryer, J. L. and J. E. Sanders (1981):

Bacterial kidney disease of salmonid fish.
Ann. Rev. Microbiol. 35, 237 - 298

Gewurz, H., Finstad, J., Muschel, L. H. and R. A. Good (1966).

Phylogenetic inquiry in to the origins of the complement system.

In: Smith, R. T. et al., Phylogeny of Immunity, University of Florida Press, Gainesville

Ghittino, P., Andruett, S. and E. Viglani (1977):

Recent findings in trout kidney pathology in Italy.

Bull. Off. int. Epiz. 87, 491 - 493

Hendricks, J. D. and S. L. Leek (1975):

Kidney disease postorbital lesions in spring chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*).

Trans. Am. Fish. Soc. 104, 805 - 807

Hicks, B. D. and J. R. Geraci (1984):

A histological assessment of damage in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, fed rations containing erythromycin.

Journal of Fish Diseases 7, 457 - 465

Hildemann, W. H. and G. H. Thoenes (1969):

Immunological responses of pacific hagfish.

Transplantation 7, 506 - 521

Hodgins, H. O., Weiser, R. S. and G. J. Ridgeway (1967):

The nature of antibodies and the immune response in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).

J. Immunol. 99, 534 - 544

Hoffmann, R., Popp, W. and S. van de Graaff (1984):

Atypical BKD predominantly causing ocular and skin lesions.

Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 4, 7 - 9

Hunn, J. B. (1964):

Some patho-physiological effects of bacterial kidney diseases in brook trout.

Proc. Soc. exp. Biol. Med. 117, 383 - 385

Iwama, G. K. (1980):

Incubation times resulting from experimental injections of kidney disease bacteria into juvenile coho salmon.

Progr. Fish. Cult. 42, 182 - 183

Iwama, G. K. and G. L. Greer (1980):

Effect of bacterial infection on the toxicity of sodium pentachlorophenate to juvenile coho salmon.

Trans. Am. Fish. Soc. 109, 290 - 292

Jensen, J. O. T., McLean, W. E. and D. F. Alderice (1981):

Effects of accessory factors on survival of newly fertilized salmonid eggs treated with an antibiotic.

Aquaculture 23, 295 - 307

Johnson, K. A., Flynn, J. K. and Amend D. F. (1982):

Duration of Immunity in salmonids vaccinated by direct immersion in *Vibrio anguillarum* and *Yersinia ruckeri* bacterins.

Journal of Fish Disease 5, 207 - 213

Kettler, S., Pfeil-Putzien, C. and Hoffmann, R. (1986):

Infection of grayling (*Thymallus thymallus*) with the agent of bacterial kidney disease.

Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 6 (im Druck)

Kimura, T. (1978):

Bacterial kidney disease of salmonids.

Fish Pathol. 13, 43 - 52

Kimura, T. and T. Awakura (1977):

Bacterial kidney disease of salmonids: First observation in Japan.

Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 43, 143 - 150

Kimura, T. and M. Yoshimizu (1981 a):

Rapid method for detection of bacterial kidney disease of Salmonid (BKD) by coagglutination of antibody sensitized protein A-containing staphylococci.

Bull. Jap. Soc. Sci. Fish 47, 1173 - 1183

Kimura, T. and M. Yoshimizu (1981 b):

A coagglutination test with antibody-sensitized staphylococci for rapid and simple diagnosis of bacterial kidney disease (BKD).

International Symposium on Fish Biologics:

Serodiagnostics and Vaccines, Leetown, W. Va., U.S.A., 1981 Develop. biol. Standard. 49,

S. Karger, Basel

Kinkelin de, P. (1974):

Corynébactériose de salmonidés: première observation en France.

Bull. Franç. de Piscicult. 254, 3 - 8

Klontz, G. W. (1972):

Haematological techniques and the immune response in rainbow trout.

Symp. Zool. Soc. Lond. 30, 89 - 99

Klontz, G. W. (1982):

Bacterial kidney disease in Salmonids. An overview. Presented at: The International

Symposium on the Antigens of Fish Pathogens:

Development and Production of Vaccines and

Serodiagnostics. May 1982, Talloires, France.

Klontz, G. W. (1978 a):

Control of bacterial kidney disease in
adult and juvenile spring chinook salmon
at the Rapid River Salmon Hatchery.
Interim Prog. Report Jul. 74 - Sep. 78.
University of Idaho. 32 p.

Klontz, G. W. (1978 b):

Prevention of bacterial kidney disease
in adult and juvenile salmonids.
Proc. 3rd Biennial Fish Health Sec. and
9th Midwest Fish Dis. Workshop. 71 p.

Klontz, G. W., Yasutake, W. I. and I. J. Parisat (1965):
Virus diseases of Salmonidae in Western United
States. III. Immunopathological aspects.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 126, 531 - 542

Kluge, J. P. (1965):

A granulomatous disease of fish produced
by flavobacteria.
Pathologia veterinaria 2, 545 - 552

Krantz, G. E., Reddecliff, J. M. and C. E. Heist (1963):
Development of antibodies against aeromonas
salmonicida in trout.
J. Immunol. 91, 757 - 760

Kusser, W. and F. Fiedler (1983):

Murein type and polysaccharide composition
of cell walls from Renibacterium salmoninarum
FEMS Microbiol. Lett. 20, 391 - 394

Laidler, L. A. (1980):

Detection and identification of the bacterial
kidney disease (BKD) organism by the indirect
fluorescent antibody technique.
J. Fish. Dis. 3, 67 - 69

- Lallier, R., Olivier, F. Chartier, P., Turcotte, C.,
Dion, B. and J. Paulhus (1981):
Presence of bacterial kidney disease in
salmonid fish in Quebec.
Can. Vet. J. 22, 226 - 229
- Legler, D. W., Evans, E. E. and H. K. Dupree (1967):
Comparative immunology: serum complement
of freshwater fishes.
Trans. am. Fish. Soc. 96, 237 - 242
- Lehmann, J. and Mock, D. (1985):
Kurzmitteilung: Nachweis der Bakteriellen
Nierenkrankheit (BKD-Bacterial Kidney Disease)
in Nordrhein-Westfalen.
Der Fischwirt 35, 21 - 22
- Liefmann, H. (1911):
Über die Hämolysine der Kaltblüterseren.
Berlin. klin.Wschr. 48, 1682
- Litmann, G. W. (1975):
Physical properties of immunoglobulins of
lower species: A comparison with immuno-
globulins of mammals.
In: Marchalonis, J. J., Comparative Immunology,
Blackwell, Oxford
- Luk'Yanenko, V. J. (1965):
Inter-species differences in the frequency of
detection and the concentration level of serum
lysozyme in fishes.
Izv. Akad. Nank. SSSR. Ser. Biol. 3, 409 - 413

Luk'Yanenko, V. J. (1966):

Antibody forming function of fish and the effect of an antigenic stimulant on the humoral factors of natural immunity.

Gidrobiol. Zh. 2, 38 - 46

Mackie, T. J., Arkwright, J. A. and T. E. Pryce-Tannatt (1933):

Second Interim Report of the Furunculosis Committee.

His Majesty's Stationary Off., Edinburgh, Scotland

Mackie, J. M. and C. S. Wardle (1971):

Electrophoretic identification of lymph from muscle tissue of plaice (*Pleuronectes platessa* L.)

Int. J. Biochem. 2, 409 - 413

Manning, M. J., Grace, M. F. and C. J. Secombes (1982):

Developmental aspects of immunity and tolerance in fish.

In: Roberts, R. J., Microbial Diseases of Fish, Academic Press, London

Mayr, A., Bachmann, P. A., Bibrack, B. und G. Wittmann (1977 b):

Virologische Arbeitsmethoden, Bd.I, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

Mayr, A., Bachmann, P. A., Bibrack, B. und G. Wittmann (1977 b):

Virologische Arbeitsmethoden, Bd.II, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

- McCarthy, D. H., Croy, T. R. and D. F. Amend (1984):
Immunization of rainbow trout, *Salmo gairdneri*
Richardson, against bacterial kidney disease:
preliminary efficacy evaluation.
J. Fis. Dis. 7, 65 - 71
- Michel, C. (1979):
Furunculose of salmonids vaccinations attempts
in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) by formalin-
kettled germs.
Annales Recherches Veterinaires 10, 33 - 40
- Millan, L. M. (1977):
New diseases in Salmon culture in Spain.
Bull. Off. int. Epiz. 87, 515 - 516
- Mitchum, D. L. and L. E. Sherman (1981):
Transmission of bacterial kidney disease
from wild to stocked hatchery trout.
Can. J. Fish. Aquat. Sci. 38, 547 - 551
- Mitchum, D. L., Sherman, L. E. and G. T. Baxter (1979):
Bacterial kidney disease in feral populations
of brook trout (*Salvelinus fontinalis*), brown
trout (*Salmo trutta*), and rainbow trout
(*Salmo gairdneri*).
J. Fish. Res. Board, Can. 36, 1370 - 1376
- Munro, A. L. S. (1982):
The Pathogenesis of Bacterial Diseases of
Fishes.
In: Roberts, R. J., *Microbial Diseases of
Fish*, Academic Press, London
- Newdick, J. (1983):
The Complete Freshwater Fishes of the
British Isles

- Ordal, E. J. and B. J. Earp (1956):
Cultivation and transmission of the etiological agent of kidney disease in salmonid fishes.
Proc, Soc. Exp. Biol. Med. 92, 85 - 88
- Paterson, W. D., Desautels, D. and J. M. Weber (1981 a):
The immune response of atlantic salmon, *Salmo salar* L., to the causative agent of bacterial kidney disease, *Renibacterium salmoninarum*.
J. Fish. Dis. 4, 99 - 111
- Paterson, W. D., Gallant, C. Desautels, D. and L. Marshall (1979):
Detection of bacterial kidney disease in wild salmonids in the Magaree river system and adjacent waters using a indirect fluorescent antibody technique.
J. Fish. Res. Board Can. 36, 1464 - 1468
- Paterson, W. D., Lall, S. P. and D. Desautels (1981 b):
Studies on bacterial kidney disease in atlantic salmon (*Salmo salar*) in Canada.
Fish Pathol. 15, 283 - 292
- Peterson, J. E. (1982):
Analysis of Bacterial Kidney Disease (BKD) and BKD Control Measures with Erythromycin Phosphate among Cutthroat Trout (*clarki bouvieri*)
Salmonid March/April, 12 - 15
- Pfeil-Putzien, C., Hoffmann, R. and W. Popp (1985 a):
Preliminary report on the occurrence of BKD in Germany
Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 5, 30 - 31

- Pfeil-Putzien, C., Hoffmann, R., Popp, W. und
M. Schauner (1985 b):
Zur Verbreitung der Bacterial Kidney Disease
(BKD) der Salmoniden in der Bundesrepublik
Deutschland.
Zbl. Vet. Med. B 32, 541 - 547
- Pippy, J. H. (1969):
Kidney disease in juvenile atlantic
salmon (*Salmo salar*) in Magaree River.
J. Fish Res. Board Can. 26, 2535 - 2537
- Plehn (1924):
Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas I
Demoll und Maier
Stuttgart S. 449 - 450
- Post, G. (1963):
The immune response of rainbow trout
(*Salmo gairdneri*) to *aeromonas hydrophila*.
State of Utah Department of Fish and Game,
Departmental Information Bulletin, U.S.A.
- Richter, R. F. (1985):
Zur Immunbiologie des Karpfens (*Cyprinus
carpio* L.)
Zeitschrift für die Binnenfischerei der
DDR, 12 : 356 - 360
- Rijkers, G. T., Frederic-Wolters, E. M. H. and
W. B. van Muiswinkel (1980):
The immune system of cyprinid fish.
Kinetics and temperature dependence of anti-
body-producing cells in carp (*Cyprinus carpio*).
Immunology 41, 91 - 97

Roberts, R. J. (1975):

Melanin-containing cells of teleost fish and their relation to disease.

In: Ribelin, W. E. und G. Migaki, The Pathology of Fishes, University of Wisconsin Press

Roberts, R. J. (1978):

The Bacteriology of Teleosts.

In: Roberts, R. J., Fish Pathology, Bailliere Tindall, London

Roberts, R. J., Shearer, W. M., Munro, A. L. S. and K. G. R. Elson (1969):

The pathology of ulcerative demal necrosis of Scottish salmon.

J. Path. 97, 563 - 565

Rolle, M., und A. Mayr (1985):

Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 5. Aufl., Enke Verlag, Stuttgart

Rucker, R. R., Earp, B. J. and E. J. Ordal (1953):

Infectious Diseases of Pacific Salmon.

Trans. Am. Fish. Soc. 83, 297 - 312

Sakai, D. K. (1981):

Heat inactivation of complements and immune hemolysis reaction in rainbow trout, masou salmon, coho salmon, goldfish and tilapia.

Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47, 565 - 571

Sanders, J. E. and J. L. Fryer (1980):

Renibacterium salmoninarum gen. nov., sp.

nov., the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fishes.

Int. J. Syst. Bacteriol. 30, 496 - 502

Sanders, J. E., Pilcher, K. S. and J. L. Fryer (1978):
Relation of water temperature to bacterial
kidney disease in coho salmon (*Oncorhynchus*
kisutch), sockeye salmon (*O. nerka*) and
steelhead trout.
J. Fish. Res. Board Can. 35, 8 - 11

Schäperclaus, W. (1979):

Fischkrankheiten. 4. Aufl., Akademie Verlag,
Berlin

Schauner, M., Hoffmann, R. und C. Pfeil-Putzien (1985):
Bakterielle Nierenerkrankung der Salmoniden
(BKD) als Problem der Forellenteichwirtschaft.
Fischer und Teichwirt 36, 162 - 164

Schauner, M. (1986):

Untersuchungen zum serologischen Nachweis der
Bakteriellen Nierenerkrankung (BKD) der Salmo-
niden. Dissertation an der tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Secombes, C. J. and M. J. Manning (1980):

Comparative studies on the immune system of
fishes and amphibians: antigen localization
in the carp, *Cyprinus carpio* L.
J. Fish Dis. 3, 399 - 412

Secombes, C. J., Manning, M. J. and A. E. Ellis (1980):

Antigen-trapping in the carp, *Cyprinus carpio*.
In: Solomon, J. B., Aspects of developmental
and Comparative Immunology I, Pergamon Press,
Oxford

Shelton, E. and M. Smith (1970):

The ultrastructure of carp (*Cyprinus carpio*)
immunoglobulin: a tetrameric macroglobulin.
J. Mol. Biol. 54, 615 - 617

Smith, I. W. (1964):

The occurrence and pathology of Dee Disease.
Freshwater and Salmon Fisheries Research
34, 3 - 9

Snieszko, S. F. and P. J. Griffin (1955):

Kidney disease in brook trout and its treatment.
Prog. Fish Cult. 17, 3 - 13

Stanworth, D. R. and M. W. Turner (1973):

Immunochemical analysis of immunoglobulins
and their subunits.
In: Weir, D. M., Handbook of Experimental
Immunology Bd. 1, 2. Auflage, Blackwell
Scientific Publications, London

Steitz, E. und G. Stengel (1984):

Die Stämme und Klassen des Tierreiches.
In: Nachtigall, W., Studium Biologie,
Verlag Chemie, Weinheim, Deerbach Field-Florida,
Basel

Suzumoto, B. K., Schreck, C. B. and J. D. McIntyre
(1977):

Relative resistance of three transferrin
genotypes of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)
and their hematological responses to bacterial
kidney disease.
J. Fish. Res. Board Can. 34, 1 - 8

Trizio, D. and Cudkowicz, G. (1978):

The effect of selective T-cell priming
anti-sheep and anti-hapten humoral response.
II. Separation by nylon-wood columns of the
activated lymphocytes.

Journal of Immunology 120, 1028

Udey, L. R. and Fryer J. L. (1978):

Immunisation of fish with bacterins of
Aeromonas salmonicida.

Marine Fisheries Review 40, 12 - 17

Wardle, C. S. (1971):

New observations on the lymph system of the
plaice, *Pleuronectes platessa* and other
teleosts.

J. of the Marine Biol. Ass. U.K. 51, 977 - 990

Warren, J. W. (1963 b):

Kidney disease of salmonid fishes and the
analysis of hatchery waters.

Prog. Fish Cult. 25, 121 - 126

Weber, J. M. and B. M. Zwicker (1979):

Aeromonas salmonicida in atlantic salmon
(*Salmo salar*): Occurrence of specific
agglutinins to three bacterial pathogens.

J. Fish Res. Board Can. 36, 1102 - 1107

Wedemeyer, G. A. (1976):

Physiological response of juvenile coho
salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and rainbow
trout (*Salmo gairdneri*) to handling and
crowding stress in intensive fish culture.

J. Fish Res. Board Can. 33, 2699 - 2702

Wedemeyer, G. A. and A. J. Ross (1973):

Nutritional factors in the biochemical
pathology of corynebacterial kidney disease
in the coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).
J. Fish. Res. Board Can. 30, 296 - 298

Winter, G. W., Schreck, C. B. and J. D. McIntyre (1980):
Resistance of different stocks and transferrin
genotypes of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)
and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) to
bacterial kidney disease and vibriosis.
Fishery Bull. 77, 795 - 802

Wiesner, E. und Ribbeck, R. (1983):

Wörterbuch der Veterinärmedizin
Gustav Fischer Verlag Jena, 1983

Wolf, K. E. and C. E. Dunbar (1959 b):

Methods of infecting trout with kidney disease
and some effects of temperature on experimental
infections.
U. S. Fish Wildl. Spec. Sci. Rep. Fish. Nr. 286

Wood, J. W. (1974):

Diseases of pacific salmon, their prevention
and treatment.
Dep. Fish. Hatch. Div., 2. Auflage, Olympia/
Wash., U.S.A.

Wood, J. W. and E. J. Ordal (1958):

Tuberculosis in pacific salmon and steelhead
trout.
Res. Briefs Fish. Comm. Oregon, 25, 1 - 38

- Wood, J. W. and J. Wallis (1955):
Kidney disease in adult chinook salmon and
its transmission by feeding to young chinook
salmon.
Res. Briefs Fish. Comm. Oregon 6, 32 - 40
- Wood, E. M. and W. T. Yasutake (1956):
Histopathology of kidney disease in fish.
Am. J. Path. 32, 845 - 857
- Wood, E. M., Yasutake, W. T. and W. L. Lehmann (1955):
A mycosis-like granuloma of fish.
J. infect. Dis. 97, 262 - 267
- Woodall, A. N. and G. LaRoche (1964):
Nutrition of salmonid fishes: XI. Iodine
requirement of chinook salmon.
J. Nutr. 83, 475 - 481
- Yamaguchi, N., Teshima, C. Kurashige, S., Saito, I.
and S. Mitsuchashi (1980):
Seasonal modulation of antibody formation
in rainbow trout (*Salmo gairdneri*).
In: Solomon, J. B. Aspects of Developmental
and Comparative Immunology I., Pergamon
Press, Oxford
- Yamamoto, I. (1975):
Infectious pancreatic necrosis virus and
bacterial kidney disease appearing concurrently
in populations of *Salmo gairdneri* and
Salvelinus fontinalis.
J. Fish. Res. Board Can. 32, 92 - 95

Young, C. L. and G. B. Chapman (1978):

Ultrastructural aspects of the causative agent and renal histopathology of bacterial kidney disease in brook trout (*Salvelinus fontinalis*).

J. Fish. Res. Board Can. 35, 1234 - 1248

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann danke ich für die Themastellung und für seine freundliche Unterstützung bei der Erstellung und Korrektur dieser Arbeit.

Herrn Ltd. Reg. Vet. Dir. Dr. B. Müller, Leiter des Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamtes Aulendorf, danke ich für die Ermöglichung dieser Arbeit durch die großzügige Bereitstellung aller notwendigen Einrichtungen am Untersuchungsamt.

Herrn Dr. J. Rapp, Leiter des Fischgesundheitsdienstes Aulendorf, danke ich herzlich für die Vermittlung von Probenmaterial und für seine freundliche Unterstützung bei der Erstellung und Korrektur dieser Arbeit.

Frau Dr. C. Pfeil-Putzien, München, danke ich herzlich für die Anleitung in der Methode und für die Unterstützung in der Literaturarbeit.

Ferner gilt mein Dank allen Mitarbeitern am Untersuchungsamt Aulendorf für ihre geduldige Hilfe und Nachsicht bei den umfangreichen Versuchsdurchführungen, insbesondere Herrn Dr. G. Reißhauer für die hilfreiche Unterstützung.

LEBENS LAUF

Frank Müller

11.07.1959 geboren als Sohn von
Karl-Friedrich Müller (verstorben)
und Helga Störk, geb. Kleen in Saulgau

Ausbildung

1966 - 1969 Hummelschule Saulgau
1969 - 1970 Brechenmacher- (Haupt-) Schule
1970 - 1973 Realschule Saulgau
1973 - 1979 Staatl. Aufbaugymnasium Saulgau mit Heim

WS 1979/80 -

WS 1984/85 Studium der Veterinärmedizin an der
Ludwig-Maximilian-Universität München

Februar 1985 Staatsexamen

März 1985 Approbation

Seit Früh-

jahr 1985 Arbeit an vorliegender Dissertation
am Staatl. Tierärztlichen Untersuchungs-
amt Aulendorf

